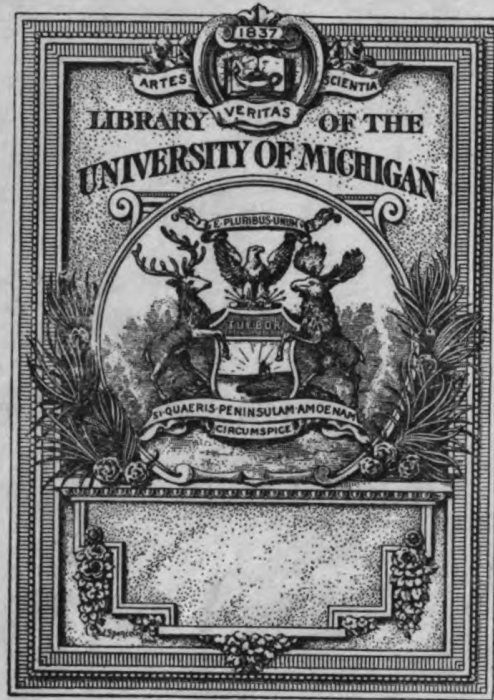


**PAGE NOT
AVAILABLE**



Hyg. la
613.0
A 67
H9

ARCHIV FÜR HYGIENE.

BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER**;
FORTGEFÜHRT VON **MAX RUBNER**

UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. O. BAIL, Prag; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. R. GRASSBERGER, Wien; Prof. Dr. M. HAHN, Freiburg i. B.; Prof. Dr. L. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. G. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. R. O. NEUMANN, Gießen; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. A. SCHATTENFROH, Wien; Priv.-Doz. Dr. P. SCHMIDT, Leipzig; Prof. Dr. M. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. W. WEICHHARDT, Erlangen; Prof. Dr. E. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

M. V. GRUBER, FR. HOFMANN, K. B. LEHMANN, P. UHLENHUTH,
O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN
MÜNCHEN LEIPZIG WÜRZBURG STRASSBURG I. E.

SECHSUNDSIEBZIGSTER BAND

Mit 16 Abbildungen.



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1912

Inhalt.

	Seite
Säureagglutination und Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe. Von Dr. Rudolf Jaffé, Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen. Direktor: Prof. Dr. med. et phil. R. O. Neumann)	1
Die Beeinträchtigung des Gift-i. e. Nitritbildungsvermögens der Cholera-vibriolen durch freie salpetrige Säure. Von Professor Dr. Rudolf Emmerich und Dr. A. Jusbaschian	12
Untersuchungen über den diagnostischen Wert des bakteriziden Reagenzglasversuches bei Typhus. Von Kreisassistentarzt Dr. Marmann. (Aus dem Kgl. Medizinal-Untersuchungsamt Koblenz. Vorsteher Kreisarzt Dr. Hilgermann)	77
Neue Untersuchungen über die Bedeutung der Blausäure für die Giftigkeit des Tabakrauchs. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. Karl Gundermann. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg)	98
Über die Zunahme des Fettes in aufbewahrttem Weichkäse und Fleisch mit Rücksicht auf die Frage der Leichenwachsbildung. Von Dr. Harrie Schütze aus Melbourne, bisheriger Assistent am Hygienischen Institut Würzburg. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg)	116
Beobachtungen bei blutlösenden und bei gramnegativen Streptokokken. Von Dr. Rudolf Jaffé, Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen)	137
Variationen in der Typhus-Koli-Gruppe. Von Dr. Rudolf Jaffé, Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen)	145
Über Massenausbreitung von Bacillus enteritidis Gärtner. Von Dr. med. Arno Trautmann, Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. F. Hofmann)	206

	Seite
Historische und experimentelle Untersuchungen über die Zichorie und den Zichorienkaffee in diätetischer und gesundheitlicher Beziehung. Von O. Schmiedeberg	210
Beiträge zur Bedeutung der Muchschen Granula im Sputum Tuberkulöser. Von Kreisassistentenarzt Dr. Marmann. (Aus dem Kgl. Medizinal-Untersuchungsamt Koblenz. Vorsteher: Kreisarzt Dr. Hilgermann)	245
Zur Frage der Bedeutung des Bacterium coli in Trinkwässern. Von Prof. Dr. Gustav Kabrhel. (Aus dem Hygienischen Institut der böhmischen Universität in Prag)	256
Studien über das Komplement. Von Privatdozent Dr. P. Schmidt, I. Assistent am Hygienischen Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Vorstand: Geh. Rat Prof. Dr. Franz Hofmann)	284
Untersuchungen über die Häufigkeit bestimmter Bakterien (namentlich Sarcinen) in der Luft und deren Herkunft. Von Dr. Harrie Schütze aus Melbourne, bisheriger Assistent am Hygienischen Institut Würzburg	293
Die Brauchbarkeit der Nährlösung nach Seitz als Ersatz für Lackmusmolke. Von Dr. G. Seiffert. I. Assistent der Anstalt und T. Wymer, Medizinalpraktikant. (Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München)	300
Die Unzuverlässigkeit der Agglutinationsreaktion bei der Diagnose der Paratyphus-B-Bazillen. Von Dr. med. W. Rimpau, II. Direktor der Anstalt. (Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München)	313
Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuserums. Von E. Weil, (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag)	343
Über die Beschleunigung der Nitritproduktion in Kulturen von Cholera-vibrien in Nitratbouillon durch deren vorhergehendes Wachstum auf verunreinigtem Boden. Von Mnoucha Chwilewizky, geb. Kviat. (Aus dem Laboratorium von Professor R. Emmerich in München)	401

Beilage: Jahresberichte der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalten München, Erlangen und Würzburg für das Jahr 1911.

Säureagglutination und Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

Von
Dr. Rudolf Jaffé,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen. Direktor: Prof.
Dr. med. et phil. R. O. Neumann.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. März 1912.)

Bekanntlich schließt die bakteriologische Diagnose des Typhus noch manche Schwierigkeiten in sich, und wir sind zurzeit leider noch nicht in der Lage, eine bestimmte Methode angeben zu können, auf Grund deren es allein möglich wäre, mit absoluter Sicherheit die Typhusorganismen herauszufinden. Es lassen eben die verschiedenen Nährböden, das morphologische und biologische Verhalten der Bakterien, ja sogar mitunter die Agglutination, deren Stütze wir nie entbehren mögen, uns hier und da launisch im Stich.

Immerhin verdient gerade letztere in den Vordergrund gestellt zu werden, weil sie infolge ihrer spezifischen Wirkung auch bei nahe verwandten Bakterien eine Entscheidung herbeiführen hilft.

Nun schien in letzter Zeit der Immunsrumagglutination eine Konkurrentin erwachsen zu sein, und zwar in Form der zuerst von L. M i c h a e l i s¹⁾ angegebenen S ä u r e a g g l u t i n a t i o n, die bei einfacherer Technik gleich sichere Resultate liefern sollte.

1) L. Michaelis, Die Säureagglutination der Bakterien, insbesondere der Typhusbazillen. D. med. Wochenschr. 1911, Nr. 21, S. 969.

2 Säureagglutination u. Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

Die Methode von Michaëlis beruht auf folgender Überlegung: Alle amphoteren Substanzen, welche an sich unlöslich sind, müssen die Eigenschaft der gleichzeitigen Säuren- und Basenlöslichkeit besitzen. Das Minimum der Löslichkeit besteht aber nicht genau bei der Neutralreaktion, sondern bei einer, wenn auch sehr schwachen sauren Reaktion, welche wir durch die Angabe der H-Ionenkonzentration genau definieren können¹⁾. Dieses Fällungsoptimum ist für jeden amphoteren Körper eine genau definierte und konstante Größe, welche zu seiner Charakterisierung ebenso verwendet werden kann wie z. B. ein Schmelzpunkt.

Nun gehören bekanntlich auch alle eiweißartigen Körper zu diesen amphoterer Stoffen, und diejenigen von ihnen, welche im freien Zustand unlöslich sind, werden daher auch ein Fällungsoptimum bei einer ganz bestimmten H-Ionenkonzentration haben.

Wenn nun in den Bakterien Stoffe vorhanden sind, welche solche Fällungsoptima haben, so würde, falls es gelänge, in den Bakterienleibern einer Bakterienemulsion eine Ausflockung hervorzurufen, sich das bemerkbar machen in einer Agglutination derselben.

Daher untersuchte Michaëlis, ob eine wässrige Aufschwemmung von Bakterien bei irgendeiner H-Ionenkonzentration ohne Zuhilfenahme eines spezifischen Agglutinins agglutiniert wird.

Zur Ausführung seiner Versuche stellte Michaëlis sechs verschiedene Säuregemische aus Normal-Natronlauge und Normal-Essigsäure, die natürlich genau aufeinander eingestellt sein müssen, dar, und zwar folgendermaßen:

	N.-Na OH ccm	N.-Essigsäure ccm	dest. Wasser ccm
Lösung 1	5	7,5	87,5
Lösung 2	5	10	85,0
Lösung 3	5	15	80
Lösung 4	5	25	70
Lösung 5	5	45	50
Lösung 6	5	85	10

Er hatte also auf diese Weise sechs Lösungen von verschiedener Wasserstoffionkonzentration. Diese Lösungen sind lange

1) Einzelheiten s. bei Michaëlis.

haltbar, besonders wenn sie mit einem größeren Kristall von Thymol versetzt werden.

Zur Anstellung der Reaktion braucht man ferner eine Emulsion der betreffenden Bakterienkultur, die in destilliertem Wasser (nicht Kochsalzlösung) hergestellt sein muß. Zur Anfertigung dieser Aufschwemmung nimmt man am besten 24-stündige Kulturen. Die Emulsionen werden vorteilhaft etwas dichter als für die gewöhnliche Widalsche Reaktion bereitet.

Der Versuch wird in der Weise vorgenommen, daß man in sechs Röhren je 1 ccm der betreffenden Lösung bringt, und zwar in Röhren 1 von Lösung 1, in Röhren 2 von Lösung 2 usw., und dazu jeweils 3 ccm der Bakterienaufschwemmung hinzufügt. Dann stellt man die Röhren in den Brutschrank und beobachtet, wann die erste Agglutination sichtbar wird. Sobald dies eingetreten ist, nimmt man sie heraus, da dann die Reaktion schnell bei Zimmertemperatur fortschreitet. Länger als eine Stunde sollte man die Versuchsreihe nicht im Brutofen stehen lassen¹⁾.

Die Resultate beschreibt Michaëlis folgendermaßen: »Bei Typhus ist die Agglutination in der Regel überhaupt nur auf drei Röhren beschränkt, nämlich 3, 4 und 5, und zwar ist die Agglutination am deutlichsten in 3, allenfalls auch 4, und in Nr. 2 und 5 ist sie schon entschieden schlechter, wenn dort überhaupt noch Agglutination eintritt. Es stellt somit das Röhren 3 das Agglutinationsoptimum des Typhusbazillus dar. — Typhusstämmen, die sich in ihrer schwereren oder leichteren Agglutinabilität durch spezifisches Agglutininserum unterscheiden, unterscheiden sich auch in der Säureagglutinabilität, und zwar in dem gleichen Sinne. Bakterien, die spezifisch schwer agglutinabel sind, sind auch durch Säure schwer agglutinabel. Das äußert sich darin, daß die Agglutination langsam, dafür aber

1) Da Michaëlis nicht erwähnt, wie lange man nach der Herausnahme aus dem Brutofen mit dem Ablesen der Resultate warten soll, habe ich dahingehende Versuche angestellt und gefunden, daß das Optimum nach ca. 1 Stunde erreicht ist. Nachher treten mitunter auch in weiteren Röhren Agglutinationen ein und machen das Resultat unsicher.

4 Saureagglutination u. Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

scharf beschränkt auf das Röhrchen des Optimum eintritt. Die Erkennung des Optimum ist daher bei den schwer agglutinablen Stämmen besonders scharf, und das ist der Vorteil gegenüber der spezifischen Agglutination, welche gerade im Falle der Schweragglutinabilität Schwierigkeiten macht. Weiter als von Röhrchen 2 bis 5 erstreckt sich die Agglutination niemals, und stets ist das Optimum der Agglutination, wenn auch nicht immer genau auf ein Röhrchen, so doch auf zwei benachbarte beschränkt.

Paratyphusbazillen haben ihr Agglutinationsoptimum bei Röhrchen Nr. 5 u. 6. — Das Optimum ist also dem der Typhusbazillen ziemlich nahe, aber doch meist gut zu unterscheiden, namentlich wenn man zur Kontrolle eine Vergleichsreihe mit authentischen Typhusbazillen ansetzt. Ein Unterschied zwischen Paratyphus A und B ist nicht zu erkennen.

Bacterium enteritidis erweist sich durchaus nicht als einheitlich.

Bacterium coli ist durch Säuren überhaupt nicht agglutinabel.«

Da nach den ersten orientierenden Versuchen, die wir vornahmen, die neue Methode gute Erfolge zu versprechen schien, wurden die Beobachtungen auf Veranlassung von Herrn Professor Neumann in systematischer Weise fortgesetzt, und zwar, um einen zuverlässigen Anhaltspunkt über die gemachten Angaben zu bekommen, mit einer großen Anzahl von Kulturen.

Mir standen 98 Stämme zur Verfügung, und zwar: 41 Stämme von *Bacterium coli*, 40 *Bacterium typhi*, 11 *Bacterium paratyphi B*, 3 *Bacterium paratyphi A* und 3 *Bacterium typhi murium*.

Alle Stämme wurden vorher genau untersucht und erst nachdem die Diagnose durch ihr biologisches Verhalten, ihr Wachstum auf den verschiedenen Nährböden und durch spezifische Agglutination sichergestellt war, wurde die Säureagglutination geprüft. Die Agglutination mit den betreffenden Immunsereis wurde am Tage des Versuchs mit der Säureagglutination nochmals wiederholt. Die Kolistämme sind durchweg frisch isoliert, und zwar meist aus Fällen, bei denen Typhusverdacht vorlag.

Einzelne stammen aus Urin, Galle und Vaginalsekret. Da es ein besonderes Interesse hatte, neben typischem Koli verwandte Arten zu prüfen, um zu sehen, ob sie sich durch die Säureagglutination als Koli mit Sicherheit zu erkennen geben würden, wurde eine große Zahl solcher Stämme genommen, deren Diagnose, auch in der Abgrenzung gegen Typhus, Schwierigkeiten geboten hatte¹⁾.

Die Typhus- und Paratyphusstämmen standen mir zum Teil aus unserer Sammlung zur Verfügung, einzelne waren von uns frisch isoliert, andere in dem dem Institut angegliederten Untersuchungsamt für Infektionskrankheiten gezüchtet, bei uns aber einer nochmaligen Nachprüfung unterzogen worden.

Die genauen Resultate meiner Versuche sind aus der Tabelle ersichtlich (siehe S. 6—8).

Von 41 untersuchten Kolistämmen zeigten 26 weder mit Immuneserum noch mit dem Säuregemisch irgendwelche Agglutination. Unter den übrigen 15 Stämmen ist einer, der mit Paratyphus A-Immuneserum und einer, der mit Typhus- und Paratyphus A-Immuneserum agglutiniert, ohne bei der Säureagglutination ein positives Resultat zu haben, dagegen 6 Stämme, die bei der Säureagglutination in einem oder mehreren Röhrchen Agglutination zeigen, ohne mit irgendeinem Immuneserum zu agglutinieren. Die anderen zeigen bei beiden Versuchen Agglutination, zum Teil aber nicht in korrespondierender Weise. Also gerade die atypischen Vertreter der Koli-gruppe, deren Unterscheidung oft so große Schwierigkeiten verursacht, sind auch mit Hilfe dieses Verfahrens nicht sicher als Koli zu erkennen.

Bei den untersuchten 40 Typhusstämmen wechselte das Agglutinationsoptimum zwischen Röhrchen 2 und 3. In 22 Fällen war die Agglutination nur in einem einzigen oder in zwei benachbarten Röhrchen vorhanden, in 5 Fällen erstreckte sie sich aber von Röhrchen 2 bis 6, obwohl nur einer von diesen

1) Über das biologische Verhalten dieser Stämme soll an anderer Stelle berichtet werden.

6 Säureagglutination u. Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

Nr.	Sammlungs-Nr.	Bakteriol. Diagnose	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Röhrchen 3	Röhrchen 4	Röhrchen 5	Röhrchen 6	Agglut. mit Typhus-Immuneser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-B.-Immuneser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-A.-Immuneser. 1:100
1	8	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	54	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	33	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	42	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	6	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	7	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	23	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	18	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	19	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	9	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	37	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	13	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	4	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	55	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	39	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	27	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	24	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	32	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	41	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	20	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	28	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	31	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	16	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	29	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	73	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	69	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	15	B. coli	—	—	+	+	++	+	+	+	—
28	11	B. coli	—	—	+++	+++	+	—	+	+	—
29	58	B. coli	—	—	—	—	+	—	schwach	+	—
30	14	B. coli	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
31	Ders. Stamm wiederholt	B. coli	—	+	+	+	+++	+++	+	—	—
32	75	B. coli	—	—	+++	+++	—	—	—	+	—
33	70	B. coli	—	—	—	—	—	—	+	—	+
34	1	B. coli	—	—	—	+	—	—	—	—	—
35	5	B. coli	+	+	—	—	+	+	—	—	—
36	17	B. coli	—	—	—	+++	+	—	—	—	—
37	2	B. coli	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—
38	Ders. Stamm wiederholt	B. coli	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	—
39	30	B. coli	—	—	—	—	+	—	—	—	—
40	35	B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	+
41	21	B. coli	—	—	—	+++	+++	—	—	—	+

Nr.	Sammlungs-Nr.	Bakteriol. Diagnose	Röhr-chen 1	Röhr-chen 2	Röhr-chen 3	Röhr-chen 4	Röhr-chen 5	Röhr-chen 6	Agglut. mit Typhus-Immunser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-B. Immunser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-A. Immunser. 1:100
42	51	B. paratyphi B	--	--	+	+++	+++	++	-	+	-
43	52	"	--	--	-	++	+++	+++	-	+	-
44	Saarbrücken	"	--	--	-	++	+++	+++	-	+	-
45	Para B	"	--	--	-	++	+	+	-	+	-
46	München	"	--	--	-	++	+++	+	-	+	-
47	Gießen	"	--	--	-	+	+++	++	-	+	-
48	Berlin	"	--	--	-	++	+++	+	-	+	-
49	Galle	"	--	--	-	++	+++	+++	-	+	-
50	Frauenklinik	"	--	--	-	++	+++	+++	-	+	-
51	Para A	B. paratyphi A	--	--	+	+++	+++	++	-	-	+
52	München	"	--	--	-	++	+++	++	-	-	+
53	Gießen	"	--	--	-	+++	+++	++	-	-	+
54	Berlin	B. paratyphi B	--	--	-	+	+++	+	-	+	-
55	Wob	B. typhi	--	+++	+++	+++	+	-	+	-	-
56	Bruchsal	"	--	+++	+++	+++	+	-	+	-	-
57	Milz	"	--	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
58	T. 13	"	--	+++	+++	++	+	-	+	-	-
59	166	"	--	+	+++	++	-	-	+	-	-
60	U. A. 1	"	--	++	+++	+++	++	+	+	schwach	-
61	Schmidt	"	--	++	-	-	-	-	+	+	-
62	Erda	"	--	+	+++	+	-	-	+	-	-
63	U. A. 2	"	--	+	++	-	-	-	+	-	-
64	U. A. 3	"	--	++	-	-	-	-	+	-	-
65	U. A. 4	"	--	+	-	-	-	-	+	-	-
66	212	"	--	++	-	-	-	-	+	-	-
67	217	"	--	++	+	-	-	-	+	-	-
68	184	"	--	++	+	-	-	-	+	-	-
69	187	"	--	+++	+++	-	-	-	+	-	-
70	201	"	--	+++	++	-	-	-	+	-	-
71	205	"	--	+	-	-	-	-	+	-	-
72	208	"	--	++	++	-	-	-	+	-	-
73	214	"	--	++	+	-	-	-	+	-	-
74	198	"	--	+++	+++	-	-	-	+	-	-
75	219	"	--	+++	+++	-	-	-	+	-	-
76	191	"	--	-	-	-	+	++	-	-	-
77	Ders. Stamm	"	--	-	-	-	-	-	-	-	-
78	194	"	--	+	-	-	-	-	+	-	-
79	189	"	--	+	-	-	-	-	+	-	-
80	197	"	--	++	-	-	-	-	+	-	-
81	199	"	--	++	+	-	-	-	+	-	-
82	183	"	--	++	-	-	-	-	+	-	-

Generated on 2019-10-03 14:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/mdp.39015045518175
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8 Säureagglutination u. Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

Nr.	Sammlungs-Nr.	Bakteriol. Diagnose	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Röhrchen 3	Röhrchen 4	Röhrchen 5	Röhrchen 6	Agglut. mit Typhus-Immuneser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-B-Immuneser. 1:100	Agglut. mit Paratyph.-A-Immuneser. 1:100
83	185	B. typhi	—	++	—	—	—	—	+	—	—
84	221	„	—	+++	++	—	—	—	+	—	—
85	193	„	—	++	—	—	—	—	+	—	—
86	72	„	—	+++	+++	++	+	—	+	—	—
87	190	„	—	++	+++	+++	++	—	+	—	—
88	173	„	—	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
89	206	„	—	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
90	209	„	—	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
91	176	„	—	+++	+++	++	+	—	+	—	—
92	88	„	—	—	—	—	—	—	+	—	—
93	203	„	—	—	—	—	—	—	schwach	—	—
94	196	„	—	—	—	—	—	—	+	—	—
95	74	„	+++	+++	++	++	+++	+++	+	—	—
96	Ders. Stamm	„	+++	++	+	+	+++	+++	+	—	—
97	26	B. paratyphi B	—	—	—	+++	++	—	—	+	—
98	Gießen	B. typhi Murium	—	+	+	—	—	—	—	schwach	—
99	Heidelberg	„	—	—	—	—	—	—	—	+	—
100	Greifswald	„	—	—	—	++	+++	+++	—	+	—
101	88 ders. Stamm wie Nr. 92	B. typhi	—	+	—	—	—	—	+	—	—
102	173 derselbe Stamm wie 88	„	—	+++	+++	+	—	—	+	—	—
103	206 derselbe Stamm wie 89	„	—	+++	+++	+++	+	—	+	—	—
104	209 derselbe Stamm wie 90	„	—	+++	+++	++	+	+	+	—	—
105	196 derselbe Stamm wie 94	„	—	+	—	—	—	—	+	—	—
106	213 derselbe Stamm wie 93	„	—	+++	++	—	—	—	+	—	—

außer mit Typhus-Immuneserum auch mit Paratyphus B-Immuneserum agglutinierte. Ein Stamm zeigte sogar in allen 6 Röhrchen Agglutination; dieser agglutinierte nicht mit Paratyphus A- und Paratyphus B-Immuneserum, aber mit Aqua dest. (nicht mit physiologischer NaCl-Lösung). Es ist in diesem Falle also erklärlich, wo die Bakterienemulsion in Aqua dest. hergestellt wird, daß in allen 6 Röhrchen Agglutination eintreten mußte. Bei 4 Versuchen war das Resultat gänzlich negativ. Es handelte sich hierbei um Stämme, die auch mit Immuneserum schwach agglutinierten, zeitweise sogar auch hier negatives Resultat lieferten.

3 von diesen Stämmen zeigten nach einigen Wochen, nachdem sie mehrfach umgeimpft waren, typische, wenn auch schwache Agglutination, einer atypische, eher dem Paratyphus entsprechende. Auffallend ist es überhaupt, daß Stämme, die zunächst atypisch agglutinierten, allmählich nach mehrmaligem Umimpfen sich typischer verhielten.

Die Agglutination bei Paratyphus B erstreckte sich bei 2 von 11 Fällen auf Röhren 4 und 5, bei 8 von Röhren 4 bis 6, nur bei einem von Röhren 3 bis 6, in Röhren 3 jedoch nur sehr schwach. Das Agglutinationsoptimum schwankte.

Bei Paratyphus A war die Agglutination in 2 von 3 Fällen in Röhren 4 bis 6, einmal auch schwach in 3. Das Optimum schwankte auch hier. Paratyphus A war also nicht von Paratyphus B zu unterscheiden.

Schließlich wurden noch 3 Stämme von Bacterium typhimurium geprüft, die alle mit Paratyphus B-Immuns serum agglutinierten. Von diesen zeigte einer die typische Paratyphusagglutination von Röhren 4 bis 6, einer gab gänzlich negatives Resultat, während der dritte mehr dem Typhus entsprach.

Während also Mich a ë l i s angibt, daß jeder Typhusstamm typische Agglutination zeige, hatte ich einige Stämme, die überhaupt nicht agglutinierten, während andere auch in Röhren, in denen nach Mich a ë l i s keine Agglutination mehr eintreten soll, noch deutliche Agglutination zeigten. Das Agglutinationsoptimum war bei mir in einer Reihe von Fällen nicht in Röhren 3 sondern 2. Die Angabe, daß leicht und hoch mit Immuns serum agglutinierende Stämme, mit Säure schnell und in einer größeren Anzahl von Röhren, schwer agglutinierbare, aber langsam und nur in dem ihres Optimums agglutinierten, kann ich bestätigen.

Meine Resultate mit Paratyphus decken sich mit den Angaben von Mich a ë l i s.

Dagegen weichen sie erheblich beim Bacterium coli ab. Leider hat Mich a ë l i s allerdings nicht angegeben, was er unter Bacterium coli und Bacterium enteritidis versteht. Vielleicht will er unter letzterem Namen auch atypische Kolis zusammenfassen.

10 Säureagglutination u. Normalagglutination der Typhus-Koli-Gruppe.

Denn daß sich letztere zum Teil gar nicht so verhalten, wie es nach Michaëlis bei *Bacterium coli* der Fall sein soll, habe ich oben gezeigt, während Michaëlis selbst für *Bacterium enteritidis* angibt, daß sein Optimum wechsele.

Soweit ich aus der Literatur ersehen konnte, sind die Versuche von Michaëlis bisher nur von Rost¹⁾ wiederholt und nachgeprüft worden. Rost hat allerdings nur 8 Typhusstämmen untersucht, die alle den Angaben entsprachen. Ein Fall von Paratyphus A zeigte keine Agglutination. Rost stellte ferner die Probe mit Mischkulturen an, indem er einfach die ganze Drygalskiplatte abschabte und zur Reaktion verwandte, und kam dabei zu dem Resultat, daß die für Typhus charakteristische Agglutination trotzdem eintrat. Daß das Resultat durch Verunreinigung der Stämme nicht beeinflußt wird, kann auch ich bestätigen. Doch möchte ich bezweifeln, daß man noch ein brauchbares Resultat bekommt, wenn, wie das praktisch ja so oft vorkommt, nur vereinzelte Typhuskolonien zwischen einer Unzahl von Koli gewachsen sind.

Rost versuchte ferner, aus den Röhrchen nach Ablauf der Agglutination wieder die alten Stämme zu züchten, so daß man sie hinterher nach den anderen Methoden weiter untersuchen könne. Er hat dazu den Lösungen kein Thymol zugesetzt und dann gute Resultate erhalten. Will man aber die Lösungen längere Zeit aufbewahren — und die Herstellung erfordert doch jedesmal einige Zeit und Mühe —, so wird der Zusatz von Thymol kaum erläßlich sein. Dann aber werden die Bakterien nach meinen Erfahrungen sehr bald absterben.

Aus dem Gesagten ergeben sich die Vorteile und Nachteile des neuen Verfahrens von selbst.

Der Hauptvorteil scheint mir in der Einfachheit zu liegen, die darin besteht, daß man mit einem Versuch zugleich feststellen kann, ob überhaupt eine Agglutination vorliegt, und ob diese für Typhus oder Paratyphus spricht. Ein großer Vorteil ist wohl auch die Schnelligkeit, mit der die Diagnose zu stellen ist, da

1) Rost, Die Verwertung der Säureagglutination zur Diagnose des Typhus. Z.-Bl. f. Bakt., 1. Abt., Originale, Bd. 60, Heft 3/4, S. 324.

man nicht unbedingt mit Reinkulturen arbeiten muß. Der Nachteil liegt aber in der Unsicherheit der Methode. Denn es gibt sowohl Typhusstämme als auch Koli, bei denen diese Probe kein sicheres Resultat liefert. In solchen Fällen müßte also die Untersuchung doch ihren alten Gang gehen, besonders da sie dann sogar der Agglutination mit den Immuneris nachsteht.

Ich bin also nach unseren Untersuchungen der Meinung, daß das neue Verfahren unsere alten Methoden nicht wird überflüssig machen können. Jedenfalls ist die Agglutination mit den Immuneris in der Mehrzahl der Fälle doch noch zuverlässiger. Dessenungeachtet bedeutet die Säureagglutination eine neue Bereicherung unserer diagnostischen Hilfsmittel.

Die Beeinträchtigung des Gift-i.e. Nitritbildungsvermögens der Choleravibrionen durch freie salpetrige Säure.

Von

Prof. Dr. Rudolf Emmerich und Dr. A. Jusbaschian.

(Bei der Redaktion eingegangen am 8. März 1912.)

Die Kenntnis des Übertragungsmodus der Cholera und der Entstehungsart der Epidemien ist die Grundlage der Prophylaxe und der Bekämpfungsmaßregeln. Deshalb wurde auch über diese Frage seit dem ersten Welteroberungszug der Cholera am heftigsten gestritten.

Im wesentlichen gibt es gegenwärtig zwei Ansichten über die Übertragungsart der Cholera: Die alte, kontagionistische, von Robert Koch akzeptierte, welche derselbe durch die glänzende Entdeckung der Cholerabazillen vorübergehend so erfolgreich rehabilitiert und durch den auf die bakteriologische Stuhl- und die biologische Blutuntersuchung gegründeten Erforschungs- und Bekämpfungsplan der Choleraverbreitung gekrönt hat. Dieser alten, kontagionistischen Ansicht steht die neuere, lokalistische Lehre Max Pettenkoeffers gegenüber, welche derselbe auf seine genialen Forschungsergebnisse über die Unfähigkeit der Cholerastühle, durch direkte Übertragung tödliche Cholera zu erzeugen und über die Bedeutung des Bodens sowie der meteorologischen und zeitlichen Faktoren für die Choleraverbreitung gründete, und durch welche nicht nur eine sichere Cholera- und

Typhusprophylaxe, sondern auch ein gewaltiger Kulturfortschritt durch die Assanierung der Städte und Ortschaften herbeigeführt wurde.

Nach **Kochs** Ansicht erfolgt die Übertragung der in den Choleradejektionen massenhaft vorhandenen, scheinbar normalen und vermeintlich mit vollem Giftbildungsvermögen ausgestatteten Cholerabazillen **direkt**, indem Spuren von Dejektionen unmittelbar in den Mund Gesunder gelangen, oder **indirekt**, indem solche auf Nahrungsmittel oder ins Trinkwasser und mit diesen in die Verdauungsorgane des Menschen übertragen werden. Zur Entstehung von Epidemien ist daher nach **Koch** nichts nötig als die Cholerabazillen und der Mensch.

Nach **Pettenkofer** sind die in den Cholerastühlen massenhaft vorhandenen Cholerabazillen nicht imstande, durch direkte Übertragung tödliche Cholera und Epidemien zu verursachen. Der Grund, warum dies so ist, war **Pettenkofer** noch verhüllt; er hat aber durch schlagende Tatsachen den Beweis erbracht, daß es sich so verhält. Damit die in den Stühlen enthaltenen »Cholerakeime« tödliche Infektionen und Epidemien erzeugen können, müssen sie nach **Max Pettenkofer** mehrere Tage lang in porösen, verunreinigten, mit einem bestimmten (mittleren) Wassergehalt versehenen Boden gelangen. Diese geniale, schon vor 68 Jahren erschlossene Erkenntnis, zu der die Kochsche Schule und die meisten Hygieniker sowie die Gesamtheit der Bakteriologen selbst bis zum heutigen Tage noch nicht vorzudringen vermochten, muß zu den glänzendsten Geistesleistungen des Menschen gerechnet werden.

Die Ansicht **Kochs** ist zum größten Teil unrichtig, nämlich insofern, als er behauptet, daß zur Entstehung von Choleraepidemien nichts nötig sei als der Choleravibrio und dessen direkte Übertragung durch die Cholerastühle oder damit infizierte Nahrungsmittel und Getränke, insbesondere Trinkwasser. Da diese unrichtige Ansicht die Grundlage der Seuchengesetzgebung des Deutschen Reiches bildet, so kann sie unter Umständen für dasselbe gefährlich und verhängnisvoll werden. Richtig aber ist an **Kochs** Lehre die Tatsache, daß die in den Cholerastühlen

14 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

enthaltenen Cholera Bazillen auf Gesunde direkt übertragbar sind, und daß durch diese direkte Übertragung anfangs, vor Beginn der Epidemie, die Verbreitung der Cholera vibrionen auf dem Boden und von Ort zu Ort geschieht. Aber Koch erkannte nicht, daß hierbei bei Ausschluß des Bodens und bei bloßer Kontaktübertragung, wie erst durch den einen von uns (Emmerich) nachgewiesen wurde, nur leichte nicht tödliche Infektionen und, in Übereinstimmung mit Pettenkofer, keine Epidemien entstehen.

Pettenkofer's Lehre ist in allen ihren Teilen richtig, mit Ausnahme des Umstandes, daß er, wenn auch logischerweise, die direkte Übertragung der Cholera Bazillen durch die Dejektionen überhaupt nicht anerkannte, da auch ihm der eben erwähnte spätere Befund Emmerich's noch verhüllt war. Dagegen hatte er durch genial geführte, epidemiologische Untersuchungen, wie gesagt, erkannt, daß die Cholera Stühle durch direkte Übertragung keine tödliche Cholera und keine Epidemien zu verursachen vermögen.

Dieser späterhin auch von Emmerich als richtig erwiesenen und in ihren Ursachen erklärten Tatsache glaubte Koch entschieden widersprechen zu müssen, weil er nachgewiesen hatte, daß die Cholera dejektionen geradezu von Cholera vibrionen wimmeln, und weil letztere scheinbar völlig normal und mit vermeintlich unbeeinflusstem Giftbildungsvermögen ausgestattet waren. Letzteres war aber, wie wir in dieser Abhandlung nachweisen werden, eine allerdings verzeihliche Täuschung, und es war deshalb auch der Schluß Koch's, daß die Cholera vibrionen obligate Parasiten seien, daß die Cholera verbreitung durch direkte und indirekte Übertragung (Nahrungsmittel und Trinkwasser) stattfinde und eine Vegetationsperiode der Vibrionen im Boden nicht nötig sei, unrichtig. Pettenkofer war daher auch, wie wir sehen werden, im vollen Recht, daß er in diesen bakteriologischen Befunden und in den falschen Schlußfolgerungen Koch's keine Erschütterung seiner mit schlagenden Tatsachen und Beweisen gestützten Lehre erblickte und vielmehr verlangte, daß die Bakteriologie den scheinbaren Widerspruch aufkläre

und nachweise, warum die zahllosen Cholerabazillen in den Exkrementen, die er selbst und viele andere ohne Schaden getrunken hatten, nicht giftig seien, warum sie zuvor auf disponierten Boden kommen müssen, um Epidemien zu erzeugen und worin der Einfluß des Bodens bestehe. »Der ganze Vorgang«, fügt er hinzu, »wird sich schließlich wahrscheinlich als ein höchst einfacher darstellen¹⁾.« Diese prophetischen Worte haben in meinem Buche: »Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera indica«²⁾ und in der folgenden Abhandlung eine, allerdings späte und von Pettenkofer leider nicht mehr erlebte Erfüllung gefunden. Die Schroffheit, mit der sich die beiden so verdienten Forscher lange bekämpften, hatte, wie aus obigem hervorgeht, ganz natürliche Ursachen, und sie war weiterhin noch darin begründet, daß beiden, sowohl Koch als Pettenkofer, zwei integrierende Faktoren des Übertragungsgesetzes der Cholera, welche erst jüngst durch R. Emmerich erkannt wurden, völlig unbekannt waren.

Der ganze unglückliche Lebensabend Pettenkofers war von dem oft und sehnsüchtig geäußerten Wunsche erfüllt, daß die Bakteriologen den Maßstab der experimentellen Kritik an seine Lehren legen und deren Richtigkeit mit aller Strenge prüfen mögen, und er wäre vielleicht nicht freiwillig aus dem Leben geschieden, wenn dies geschehen wäre und wenn man ihn nicht, gleich Bismarck, der ihn hoch verehrte, auf die Seite geschoben hätte. Man erklärte ohne weitere Prüfung, lediglich auf Kochs eben erwähnten Befund und falsche Schlußfolgerung hin, die ganze Pettenkofersche Lehre als falsch und überlebt, und einige übereifrige, jüngere Schüler Kochs (wie Kollé, Gottschlich u. a.) konnten dieses unberechtigte, oberflächliche Vernichtungsurteil nicht oft und geräuschvoll genug in alle Welt hinausrufen. Selbst die Schüler und die Anhänger des früher einflußreichen Pettenkofer sahen dem Kreuzigungsakte im Hintergrunde untätig zu. Für die preußische Me-

1) Zum gegenwärtigen Stand der Cholerafrage. München und Leipzig 1887. R. Oldenbourg's Verlag, S. 737.

2) Experimentell begründet und weiter ausgebaut von Dr. Rudolf Emmerich, München. J. F. Lehmanns Verlag 1910.

16 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

dizinalbehörde sowie für den Reichs-Gesundheitsrat waren nur noch Kochs Lehren das Evangelium, von dem allein Heil in der Not zu erwarten war. Man ließ sich in diesem festen Glauben selbst durch die entsetzliche Katastrophe in Hamburg, die einzige, welche in trockener, disponierter Zeit seit 1873 über eine deutsche Stadt hereingebrochen war, nicht irre machen, obgleich sich dabei die Unzulänglichkeit der Kochschen Maßregeln bei voll entwickelter Bodendisposition mit niederschmetternder Deutlichkeit gezeigt hatte.

In regenreichen Zeiten, wie 1905 in Preußen, breitet sich die Cholera mit keiner oder sehr geringer Mortalität äußerst langsam durch Kontakt nur von Mensch zu Mensch aus; da die Vibrionen auf dem von Regenwasser durchtränkten Boden plasmolytisch zugrunde gehen, und da dieselben beim Durchgang durch den Darm der Menschen eine immer stärkere Verminderung ihres Giftbildungsvermögens erfahren, so kommt es nur zu leichten, auf wenige Menschen beschränkte Kontaktepidemien, die (wie 1905 in Adolfsdorf und in Stolpe) rasch von selbst erlöschen müssen. In solchen Fällen sind die Kochschen Maßregeln, die sich auf die bakteriologische Untersuchung der Stühle Kranker und der mit ihnen in Beziehung stehenden, gesunden Personen gründen, scheinbar wirksam. Wenn aber die unsichtbaren Reiwasserstühle auf verunreinigten Boden kommen, in welchem nach mehrmonatlicher Trockenheit der kapillar aufsteigende Wasserstrom die Bodenoberfläche so stark mit Nährstoffen angereichert hat, daß sich die Cholerabazillen so üppig auf derselben vermehren können wie in Nährbouillon, dann entsteht zehnmal rascher als in Regenzeiten eine schwere Epidemie mit hoher Mortalität, indem die Ausbreitung der Cholera nicht mehr bloß durch Kontakt von Mensch zu Mensch, sondern durch Verschleppung der auf dem Boden wachsenden Vibrionen vermittelt der Schuhe der Passanten erfolgt. Es entstehen, wenn einmal Bodenherde der Cholerabazillen gebildet sind, auf diese Weise an disponierten Stellen rasch neue Herde, die unsichtbar und kaum aufzufinden sind. Bei solchen Bodenepidemien, für welche die Hamburger ein klassisches, aber erschütterndes Beispiel ist, erweist sich die

Kochsche Methode der Cholerabekämpfung als unzulänglich, ja, wie es in Hamburg 1892/93 auch der Fall war, als völlig wirkungslos. Man hat zwar gesagt, die Hamburger Epidemie sei so heftig geworden, weil die Kochschen Maßregeln nicht richtig und nicht rechtzeitig genug ausgeführt wurden und weil Koch selbst zu spät zum Eingreifen kam. Aber warum konnte denn Koch die Epidemie im folgenden Jahre 1893 nicht verhüten, vor deren Beginn seine Bekämpfungsmaßregeln doch längst von ihm selbst organisiert und geleitet und durch reiche, man kann sagen durch unbeschränkte Mittel sowie durch unbegrenztes, sachverständiges und gut geschultes Personal unterstützt war? Man sollte denken, diese entsetzliche Katastrophe und dieses offenkundige Fiasko Kochs hätte allen oder wenigstens den sachverständigen Hygienikern die Augen öffnen und sie davon überzeugen müssen, daß eine solche Epidemie, wie die Hamburger, nur durch die Pettenkofersche Lehre, wie dies Wolter durchführte, erklärbar ist. Aber wenn auch durch Wolter u. a. logisch nachgewiesen wurde, daß auch das Trinkwasser die Hamburger Epidemie nicht verursacht haben konnte, so glaubten doch alle an das Trinkwasser, und dieser Trinkwasserglaube, der so einfach ist, daß ihn auch das Publikum versteht, kam Koch zu Hilfe, und es zeigte sich dabei evident, daß in Glaubenssachen wissenschaftliche Gründe keine Beachtung finden.¹⁾ Pettenkofer war und blieb abgetan.

Nachdem ich mehr als 20 Jahre hindurch das Glück hatte, an Pettenkofers angestregter und selbstloser Forschungstätigkeit teilzunehmen, und nachdem ich ebenso von dessen Wahrhaftigkeit wie von der Richtigkeit seines epidemiologischen Beobachtungsmaterials und von der logischen Bearbeitung desselben überzeugt war, hielt ich es für eine heilige Pflicht, der oft gehörten Aufforderung des genialen Lehrers Folge zu leisten und den Versuch zu machen, die Choleraätiologie endlich der

1) In meinem Buche »Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera indica usw.« sind einige Beweise, die gegen die ursächliche Bedeutung des Trinkwassers bei der Hamburger Epidemie 1892/93 sprechen, auf S. 735 usw. zusammengestellt.

experimentellen Prüfung zu unterziehen, die unerklärlicherweise solange unterlassen worden war, obgleich die Möglichkeit hierzu seit Entdeckung der Choleravibrionen gegeben war. Die Resultate habe ich in einer umfangreichen Arbeit teilweise veröffentlicht, und die darin noch nicht besprochenen experimentellen Untersuchungen werden in besonderen Abhandlungen publiziert werden. In dem genannten Buche haben alle ursächlich noch dunklen Feststellungen Pettenkofers, deren naturgesetzliche Dignität aber außer Zweifel stand, eine befriedigende Erklärung und experimentelle Begründung erfahren. Außerdem aber ist es mir, wie schon erwähnt, gelungen, zwei bisher unbekannte, aber wesentliche Faktoren des Übertragungsgesetzes der Cholera ans Licht zu ziehen und den einen derselben der experimentellen Prüfung zugänglich zu machen, deren gemeinschaftlich mit Herrn Dr. A. Jusbaschian unternommene Weiterführung zu sehr beachtenswerten und überzeugenden Resultaten geführt hat, die in dieser Abhandlung mitgeteilt werden sollen. Auf Grund dieser durch epidemiologische und experimentelle Untersuchungen erzielten neuen Erkenntnisse über die Verbreitungsart der Cholera kann auch die Ursache des Streites und des Mißverständnisses zwischen Koch und Pettenkofer aufgeklärt, das, was an beiden Lehren richtig ist, festgestellt und das Übertragungsgesetz der Cholera formuliert werden.

Neue Ermittlungen über den Übertragungsmodus der Cholera.

1. Entgegen Pettenkofers Ansicht und in Übereinstimmung mit Kochs exkrementieller Kontakttheorie kommt die ausschließlich direkte Übertragung der Choleravibrionen von Mensch zu Mensch mit Ausschluß des Bodens häufig vor.

2. Im Gegensatz zu Kochs Ansicht von der vollen Wirksamkeit der Dejektions-Cholerabazillen werden bei der direkten Übertragung derselben, also bei Ausschluß des Bodens, nur leichte Erkrankungen: Cholerine, Choleradiarrhöe und Infektionen

ohne Erkrankung (Bazillenträger), aber, wie Pettenkofer richtig erkannt hatte, keine tödlichen Cholerafälle und keine Epidemien verursacht.

3. Die Ursache der relativen Unschädlichkeit und schwachen Giftwirkung der Dejektions-Cholera Bazillen nach direkter Übertragung liegt darin, daß die im Stadium der Inkubation oder prämonitorischen Diarrhöe auf, zwischen und unter dem Epithel der Darmschleimhaut zu massenhafter Vermehrung gelangten Choleravibrionen bei Einfuhr nitratreicher Nahrung plötzlich große Mengen von salpetriger Säure bilden, welche nach Emmerichs Untersuchungen im Erbrochenen in der Menge von 1:10 000, 1:20 000 usw. vorhanden ist. Diese Salpetrigsäurelösungen wirken nun wie auf das Darmepithel, welches sie zerstören, auch auf die Choleravibrionen, von denen sie erzeugt wurden, schädigend ein, so daß das Vermehrungs- und Nitritbildungsvermögen der Vibrionen, wie durch die folgenden Versuche gezeigt wird, dauernd so stark beeinträchtigt wird, daß sie in der gleichen Zeit nur die Hälfte oder ein Viertel oder noch weniger von der tödlichen Nitritmenge zu bilden vermögen, durch welche sie den ersten schweren Choleraanfall verursachen. Die so geschädigten Choleravibrionen vermögen aus diesen Gründen nach der ersten Darmassage bei direkter Übertragung ohne Bodenzwischenstadium nur noch leichte Choleraerscheinungen, und zwar, je nach dem Grade ihrer Schädigung und dem noch vorhandenen Restbetrag des Nitritbildungsvermögens, entweder nur Cholerae und Choleradiarrhöe oder gar nur Infektionen ohne Erkrankung (Bazillenträger), aber keine tödlichen Fälle und keine echten Choleraepidemien mit der gewöhnlichen Mortalität von 50 bis 60% zu verursachen. Es muß jedoch bemerkt werden, daß Ausnahmen hiervon vielleicht nicht selten vorkommen werden, da wohl auch Choleravibrionen den Darm verlassen können, bevor sie von freier salpetriger Säure geschädigt sind. Von jedem

Gesetz gibt es Ausnahmen, und es wäre verkehrt, die vielartigen natürlichen Verhältnisse durch ein starres Schema festlegen zu wollen. Wenn bei reinen Kontaktketten die Vibrione ohne Bodenzwischenstadium durch direkte Übertragung wiederholt den menschlichen Darm passierten, so wird bei jeder Darmpassage ihr Vermehrungs- und Giftbildungsvermögen neuerdings weiter herabgesetzt, bis sie es endlich fast verlieren, so daß z. B. nach dem ersten Darmdurchgang größtenteils noch Kontaktinfektionen in Form von Cholerinen, nach dem zweiten nur noch Cholera-diarrhöe, nach dem dritten nur noch Bazillenträger und schließlich überhaupt keine Infektionen mehr durch die sukzessive immer stärker geschädigten Vibrionen zustande kommen. Darin liegt der Grund, warum es in der Regel nur kurze Kontaktketten gibt, und warum die Kontaktepidemien ohne oder mit sehr geringer Sterblichkeit verlaufen und rasch von selbst erlöschen müssen.

4. Damit die mit den Cholerastühlen ausgeschiedenen, in ihrem Vermehrungs- und Nitritbildungsvermögen mehr oder weniger stark geschädigten Cholera-vibrionen wieder tödliche Cholera und große Epidemien mit 50 bis 80% Mortalität verursachen können, müssen sie einige Tage hindurch auf verunreinigtem, nitrathaltigem, porösem und kapillar durchfeuchtetem Boden wachsen, dessen Oberfläche in vorausgegangenen Perioden großer Trockenheit durch einen lebhaften kapillar aufsteigenden Flüssigkeitsstrom mit geeigneten Bakteriennährstoffen angereichert wurde.

Die Beweise, welche für die Richtigkeit der obigen Übertragungsgesetze der Cholera angeführt werden können, sind zahlreich und überzeugend. Diese Beweise sind:

a) Die soeben erwähnten kleineren Kontakt-Choleraepidemien ohne Sterblichkeit auf dem Lande. Bei einzelnen derselben kann die Beteiligung des Bodens mit aller Bestimmtheit ausgeschlossen werden, da es zur Zeit der Choleraeinschleppung fortgesetzt so stark regnete, daß nach E m m e r i c h s experimentellen Untersuchungen die Cholera-vibrionen auf dem mit Regenwasser durchfeuchteten Boden wie in destilliertem Wasser plasmolytisch zu-

grunde gehen mußten. Dies war, wie E m m e r i c h¹⁾ gezeigt hat, in Adolfsdorf und in Stolpe in Preußen im Jahre 1905 der Fall. Wir teilen hier die Zahlen für Stolpe mit:

	Sept.			Oktober 1905									Meteor. Station Berlin, Teltowstr.
	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	
Regen in mm	32,4	—	0,8	5,1	4,7	1,5	—	5,6	4,7	7,2	1,5	0,5	
Cholera- infektionen	—	—	—	—	—	—	1	2	2	1	—	3	

	Oktober 1905										Meteor. Station Berlin, Teltowstraße.	
	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.		20.
Regen in mm	10,9	—	0,3	0,6	7,8	6,5	12,4	—	4,8	0,3	0,8	
Cholera- infektionen	—	3	1	5	—	1	—	—	1	—	—	

Wenn man bedenkt, daß es auch in der vorausgegangenen Zeit stark regnete, und daß das Jahr 1905 eines der nässesten war, so kann mit m a t h e m a t i s c h e r B e s t i m m t h e i t gesagt werden, daß eine Vermehrung oder auch nur kurz dauernde Konservierung der Choleravibrionen auf dem Boden ganz unmöglich war, dieselben mußten vielmehr im Regenwasser, welches die Hohlräume des Bodens füllte, rasch zugrunde gehen. Es war somit nur direkte Übertragung (ev. unter Vermittlung von Nahrungsmitteln) möglich. I n e v i d e n t e r B e s t ä t i g u n g des oben formulierten Übertragungsgesetzes ereigneten sich denn auch, nachdem am 4. Oktober ein aus Ungarn zugewanderter Schnitter an Cholera gestorben war, in der Zeit vom 4. bis 18. Oktober 19 Infektionen, von denen, wie es das Gesetz verlangt, nur zwei schwerere Krankheitserscheinungen, 14 aber leichte Durchfälle ohne sonstige Störungen und drei gar keine Krankheitssymptome zur Folge hatten. Nur der erste, aus Ungarn eingeschleppte, mit Bodencholera Bazillen infizierte Fall endete tödlich.

In gleicher Weise wie diese Kontaktepidemie ohne Sterblichkeit bestätigen auch die anderen Choleraepidemien ohne Mor-

¹⁾ Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera etc. München 1910 S. 404. Siehe auch; Klinisches Jahrbuch Bd. XVI S. 115 u. 242.

22 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

talität die Absätze 1, 2 und 3 des Gesetzes der Choleraübertragung. Es sind dies die Epidemien in Weißenburg in Bayern 1854 (175 Fälle mit 1 Todesfall). Die Epidemie in Simla (1886) mit Hunderten von Erkrankungen ohne Todesfälle, die Epidemie in Aubing bei München (1873/74) mit 26 Erkrankungen und 1 Todesfall u. a.

b) Die Choleraausbrüche auf Seeschiffen, welche notorisch und ausschließlich dadurch verursacht wurden, daß ein am Lande infizierter Mensch oder mehrere solcher an Bord kamen, sind ausnahmslos ebenfalls eklatante Beweise für die Richtigkeit des neuerdings erkannten Übertragungsgesetzes der Cholera, insbesondere dafür, daß durch direkte Übertragung der Dejektions-Cholera Bazillen keine tödlichen Infektionen entstehen.

Solche Fälle hat Dr. F. D i e t e l auf mehr als 70 Seereisen, die er von Rotterdam nach Java und Sumatra und entlang der Küste dieser Inseln als Schiffsarzt mitmachte, häufig beobachtet. Dieselben sind mitgeteilt in dem Buche: »Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera usw.« S. 182 usw. Daß bei den von Dr. D i e t e l beschriebenen Kontaktepidemien ohne Sterblichkeit die ersten sie veranlassenden t ö d l i c h e n Fälle vom Lande stammten, also sicherlich durch Boden-Cholera Bazillen verursacht waren, geht daraus evident hervor, daß die betreffenden Matrosen 24 Stunden vor der tödlichen Choleraerkrankung eine Nacht unerlaubterweise am Lande (z. B. in dem von Cholera ergriffenen Soerabaja) zubrachten. An diese schweren, meist tödlichen, am Lande infizierten Fälle schlossen sich auf den betreffenden Passagierschiffen stets eine größere Anzahl von leichteren Choleringen und Choleradiarrhöen (bis zu 30), also Epidemien ohne Sterblichkeit an. Auch Kontaktepidemien typischer Schiffscholera mit 18 bis 20 durchweg leichteren Fällen ohne tödlichen Ausgang hat Dr. D i e t e l öfters beobachtet, z. B. im Oktober 1902 auf »S. S. Goentoer«.

Von 222 schmutzigen Kulischiffen, welche 1871 bis 1880 129 527 Kuli von Kalkutta nach Mauritius, Natal und Westindien brachten und auf deren jedem ca. 500 Kuli waren, kamen nach Lawson auf 33 Cholerafälle vor; aber auf 13 derselben ereigneten sich nur 1—2 Todesfälle, auf den übrigen auch nur

mehrere und nur auf einem einzigen 17 unter 506 Kuli, also im Maximum 3,4%, obgleich jede Reise mehrere Monate dauerte. Während die Cholerasterblichkeit auf den erwähnten 13 Kulischiffen nur 0,2 bis 0,4% betrug, ist dieselbe auf dem Lande ungemein viel größer; sie war z. B. 1854 in Gaimersheim bei Ingolstadt hundertmal größer, da von den Bewohnern der ergriffenen Häuser 28% starben. Die Statistik *L a w s o n s* bestätigt, ebenso wie die *Dr. Dietels*, das Gesetz der direkten Übertragung (Absatz 1, 2, 3 und indirekt auch 4). Auf dem Schiffe, auf dem der Boden fehlt, ist die Cholera eine harmlose Krankheit, an der niemand stirbt.

Wo immer auf Schiffen eine schwere Choleraepidemie mit vielen tödlichen Fällen vorkam, war der am Lande mit Boden-Cholera Bazillen infizierte Proviant die Ursache. Diese Proviantinfektionen haben fast alle das Gemeinsame, daß nur eine bestimmte Kategorie der Mitfahrenden befallen wurde, z. B. nur die Matrosen und nicht die Passagiere oder umgekehrt, ferner, daß im Gegensatz zu den ohne Sterblichkeit verlaufenden Schiffs-Kontaktepidemien bei den Proviantepidemien die Mortalität 40 bis 70% beträgt wie bei der Landcholera.

Bei dem furchtbaren Choleraausbruch auf der *Britannia* während des Krimkrieges wurden von 1040 Mann 229 von Cholera befallen, wovon 139 starben, und zwar 50 in einer einzigen Nacht, so daß die Mortalität 60% beträgt, was allein schon die Infektion mit Boden-Cholera Bazillen wahrscheinlich macht. Diese Wahrscheinlichkeit wird zur Bestimmtheit durch die Tatsache, daß von 70 Offizieren kein einziger erkrankte, während im Verhältnis zur Mannschaft 15 Erkrankungen und 9 Todesfälle unter denselben vorkommen mußten. Der Proviant kam denn auch vor und während der Epidemie **täglich vom Lande** und die letztere hörte auf, als die vielen Cholerakranken von der *Britannia* **auf andere Schiffe mit anderem Proviant** verteilt wurden.

Der eine von uns (*Emmerich*) hat gezeigt, daß auch die Choleraepidemien mit mehr als 50% Mortalität auf der »*Carnatic*«, dem »*Apollo*«, »*Lord Warden*«, »*Queen of the North*«, »*Renown*«, »*Queen*«, »*Caledonia*«, »*Bellerophon*« durch am Lande

sicherlich mit Boden-Cholerabazillen infizierten Proviant verursacht waren, daß aber nebenher viele ungefährliche Kontaktinfektionen stattfanden, infolge deren z. B. auf der »Queen« auf jeden schweren Cholerafall 3,4 Choleradiarrhöen folgten.

Auch für die von Pfuhl beschriebenen schweren Choleraepidemien auf dem Carlo R., dem Dampfer »Remo« und dem »Vincenzo Florio« muß am Lande infizierter Proviant als Ursache angeschuldigt werden. Auf dem Carlo R. hörte dementsprechend die Epidemie auf, als in Ilha Grande frische Nahrungsmittel an Bord kamen, und alle diese schweren Schiffsepidemien entsprechen dem oben statuierten Gesetz der gemischten Infektion, insofern jeder schwere durch Boden-Cholerabazillen (Proviant) verursachte Cholerafall vier bis sechs leichte Kontaktinfektionen, d. h. Choleradiarrhöen, zur Folge hatte. Auf dem Carlo R. erkrankten nach den Angaben des Schiffsarztes Dr. Buscalioni alle Auswanderer, welche nicht von schwerer Cholera ergriffen wurden, nämlich 1240, an Choleradiarrhöe.

c) Wie die Schiffscholera, so ist auch die Choleramorbilität und Mortalität der Cholerawärter ein einwandfreier Beweis dafür, daß das von Emmerich erkannte Übertragungsgesetz die tatsächlichen Verhältnisse wahrheitsgetreu widerspiegelt.

Gegen den Nachweis Pottenkoeffers, daß die Choleraejektionen unschädlich seien, weil die Choleramortalität der Cholerawärter bei Ausschluß von Hausepidemien nicht größer ist als die Choleramortalität der Gesamtbevölkerung, haben die Vertreter der Kochschen Choleralehre und insbesondere Flügge eingewendet, dies beruhe auf der größeren Reinlichkeit, Vorsicht und guten Schulung der Wärter. Es war von vornherein klar, daß dies nur ein Verlegenheitseinwand ist, da ja in der vorbakteriologischen Zeit, in welcher Pottenkofer, Port, Günther, Cunningham u. a. ihr diesbezügliches Beweismaterial gesammelt hatten, die Wärter, wie viele (z. B. Jameson, Bruce, Ricord, Port, E. Greifenberg u. a.) berichten, mit den nicht desinfizierten Ejektionen in innige Berührung kamen, ja ganz damit übergossen und durchnäßt wurden, ohne daß ein Kleiderwechsel oder gar eine Desinfektion erfolgte.

Es mußten unter solchen Umständen viele Infektionen durch die Dejektionsvibrionen stattfinden, die aber keine tödliche Cholera zur Folge hatten. Die Choleramortalität der Wärter war in den indischen und europäischen Hospitälern nie größer als die der Gesamtbevölkerung der ergriffenen Städte.

Trotz dieser überzeugenden Widerlegung durch die durch eine große Statistik gestützten, epidemiologischen Tatsachen hat Flügg e seine unzutreffende Behauptung nicht zurückgenommen. Aber schließlich kommt die Wahrheit immer zum Durchbruch, und so hat denn auch in dieser Frage neuerdings die Bakteriologie gezeigt, daß Pettenkofer im Recht und Flügg e im Unrecht ist. Wo man nämlich zur Zeit von Choleraepidemien die Stühle der gesamten Cholerawärter eines Hospitals bakteriologisch untersuchte, da stellte sich der verblüffende Befund heraus, daß Cholerainfektionen bei den Cholerawärtern sehr häufig sind und viel häufiger, als man bisher glaubte. So war es in russischen Spitälern 1909 und auch schon bei der letzten Choleraepidemie in Hamburg. Die Ursache der geringen Choleramortalität der Wärter kann also nicht, wie Flügg e meinte, die Verhütung der Infektionen infolge größerer Reinlichkeit und guter Schulung sein, denn die Infektionen kommen ja sehr häufig vor, aber sie verlaufen so leicht, daß man sie ohne die bakteriologische Untersuchung der Stühle des scheinbar gesunden Wärterpersonals gar nicht bemerkt hätte. Die Erklärung liegt in Absatz 2 des Übertragungsgesetzes, nach welchem bei direkter Übertragung der Dejektionsvibrionen nur leichte Choleringen und Choleradiarrhöen sowie Bazillenträger, aber keine tödlichen Cholerafälle entstehen. Dieser Befund spricht entschieden gegen Flügg e's Ansicht. Hören wir Prof. Dr. Th. Rumpfs¹⁾ objektiven Bericht über die Hamburger Erfahrungen: »Während der großen Hamburger Epidemie von 1892 erkrankten von dem älteren und neu eingestellten Wartepersonal des Neuen Allgemeinen Krankenhauses 7 Personen und starben 3. Es ergibt dies bei einem Bestand

1) Cholera indica und nostras. Jena 1898, S. 19.

des Wartepersonals von etwa 300 Personen eine Mortalität von 1%. Im Alten Allgemeinen Krankenhause erkrankten außer dem Verwaltungsdirektor und 2 Ärzten von dem älteren und neu eingestellten Wartepersonal insgesamt 13 Personen. Von diesen starben 4¹⁾. Da aber eine von diesen die letzten Tage vor der Erkrankung nicht im Krankenhause zugebracht hatte, so dürfte die Zahl der Haustodesfälle auf drei reduziert werden müssen. Bei dem Bestande des Wartepersonals von etwa 300 gibt das gleichfalls eine Mortalität von 1%. Höher kann dieselbe aber keinesfalls gerechnet werden, da zeitweise weit über 600 Personen in der Cholerapflege in beiden Krankenhäusern tätig waren. Diese Mortalität bleibt hinter der Gesamtmortalität zurück, welche auf 100 Einwohner 1,344 Todesfälle an Cholera ergibt.

Bei der kleineren Epidemie des Jahres 1893 wurden vom September bis November 82 schwere Cholerafälle und 69 Fälle von Cholera oder Choleradiarrhöe im Neuen Allgemeinen Krankenhause behandelt. Von diesen starben 42. An der Pflege dieser Choleraerkrankten waren 26 Personen beteiligt. Zwei Wärter waren mit der Hilfeleistung bei Untersuchung der Dejektionen und der Kulturen beschäftigt. Während dieser Zeit erkrankten an Cholera resp. Choleradiarrhöe eine Kartoffelschälerin, zwei Krankenschwäger, eine Krankenschwägerin und der eine Anatomiediener, welcher bei der Untersuchung der Cholerastühle zu Hand ging. Von dem Wartepersonal erkrankten nur solche, welche bei der Pflege Choleraerkrankter beschäftigt waren, das übrige Wartepersonal blieb völlig gesund. (Eine sehr wichtige Angabe, welche dafür spricht, daß es sich bei allen Infizierten um Kontaktinfektion durch Dejektionsvibrionen handelt, weshalb die Fälle nach dem Übertragungsgesetz Absatz 2 alle bis auf einen leicht waren. Die Verfasser.) Von den Erkrankten, bei denen die Diagnose bakteriologisch bestätigt wurde, starb keiner, drei waren während der kurzen Erkrankung völlig dienstfähig, während einer zeitweise

1) Es ist höchst wahrscheinlich, daß die vier tödlichen Fälle nicht mit Dejektionsvibrionen, sondern mit auf dem Boden gewachsenen Cholera-bazillen infiziert wurden.

schwer erkrankt war. Würde man nur Todesfälle in Betracht ziehen, so könnte allerdings der falsche Schluß gezogen werden, daß in der Choleraepidemie von 1893 keine Infektion des Wartepersonals stattfand, während dieses in Wirklichkeit in überraschend hoher Zahl ergriffen wurde, ohne daß allerdings Todesfälle auf die Erkrankung folgten. Nur durch die eingehende bakteriologische Untersuchung konnte dieser Befund erhoben werden.«

Diesen leichten Verlauf der vielen Kontaktinfektionen vermag Rumpff nicht zu erklären, während sich aus dem Übertragungsgesetz die Erklärung bis ins einzelne ergibt. Auch diese Beobachtungen bei der Hamburger Choleraepidemie sprechen gegen Flüggés Ansicht und mit packender Entschiedenheit für die Richtigkeit des Übertragungsgesetzes von Emmerich.

Genau die gleiche Milde des Verlaufes zeigten die Wärterinfektionen bekanntlich auch bei Epidemien früherer Zeiten. 1834, als man noch nicht an Desinfektionen dachte und die Reinlichkeit alles zu wünschen übrig ließ, erkrankten in Wien von 322 Cholerawärtern 15 und es starb keiner! In Paris starben 1865/66 von 6091 Wärtern und Ärzten nur 12; die sich ergebende Sterblichkeit von 0,197% liegt sehr weit unter derjenigen der Bevölkerung.

Das sind handgreifliche, konkrete Tatsachen, und das aus denselben entwickelte Übertragungsgesetz der Cholera ist eine Grundwahrheit, die endlich Beachtung finden muß. Obgleich es daher nicht mehr nötig wäre, so führen wir doch noch einen vierten schlagenden Beweis für die Richtigkeit des Übertragungsgesetzes an, insofern dasselbe aussagt, daß im Choleraarm eine Abschwächung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens der Cholera Bazillen stattfindet, infolge deren Infektionen mit Dejektions-Cholera-vibrionen nur leichte Erkrankungen verursachen. Dieser schlagende Beweis für diese Wahrheit sind die Selbstinfektionsversuche, welche 40 bis 50 Personen, darunter hervorragende Forscher wie Pettenkofer und Metschnikoff, am eigenen Leibe durch das Verschlucken von Cholera Bazillen ausgeführt haben — mit dem großen, überraschenden Ergebnis, daß alle nur an leichter

Choleradiarrhöe, kein einziger an tödlicher Cholera erkrankte. Als **Koch** nachgewiesen hatte, daß die Cholerastühle von Milliarden von Cholerabazillen wimmeln, da stand es für ihn und für alle fest, daß das Verschlucken von Spuren dieser Stühle die echte, meist tödliche Cholera zur Folge haben müsse. Das war nur Schein, **Koch** hatte sich getäuscht, und noch heute leben seine Anhänger in dieser Täuschung fort. **Max Pettenkoffer** hatte schon längst »durch den Schein der Dinge, die Dinge selbst«, die Wahrheit erkannt; durch die Schiffscholera, durch das Verhalten der Cholerawärter und vieles andere hatte er den Beweis erbracht, daß die Choleradejektionen keine tödliche Cholera verursachen. Man glaubte ihm nicht! — Da leerte er, in todesmutiger Überzeugung, den Giftbecher mit Reinkultur von Cholerabazillen, wenige Tage vorher aus Cholerastuhl gezüchtet. **Pettenkoffer** hoffte, daß nach dem gefahrlosen Verlauf viele seiner Schüler den heroischen Versuch wiederholen würden, um über allen Zweifel die Wahrheit festzustellen, daß Cholerabazillen aus Stühlen keine tödliche Cholera verursachen. Sie verzichteten auf den Leckerbissen, und nur einer (**Emmrich**) führte den Versuch auch aus; aber zwei Versuche waren für die einwandfreie Beweisführung ungenügend. Da kam **E. Metschnikoff** und vollendete die Beweisführung, für die Unfähigkeit der Dejektionsbazillen tödliche Cholera zu erzeugen, indem er an sich selbst und mit seinen Mitarbeitern acht Selbstinfektionsversuche ausführte, welche sämtliche nur ganz leichte Erkrankungen zur Folge hatten, bis auf einen, welcher einen etwas schwereren Verlauf nahm, der aber auch nur als Cholérine, nicht als algide Cholera bezeichnet werden kann. Auch Prof. **Stricker** in Wien hat bekanntlich acht Selbstinfektionsversuche beschrieben, bei welchen 1 ccm Bouillonkultur von Cholerabazillen aus Leichen oder Dejektionen oder entsprechende Mengen von Gelatinekultur verschluckt wurden. Auch diese Versuche hatten nur ganz leichte Krankheitserscheinungen zur Folge. Bekanntlich hatte schon **Ferran** und sein Assistent **Pauli** bei sich und einer größeren Anzahl von anderen Personen, die sich durch subkutane Cholerabazilleninjektionen vermeintlich geschützt hatten, Selbstinfektionsver-

suche durch Verschlucken von 6—8 Tropfen Bouillonkultur ausgeführt. Obgleich diese Art der Schutzimpfung keinerlei Schutz gewährt, erkrankten weder Ferran und Pauli noch die anderen Versuchspersonen an echter Cholera, sondern nur an leichter Cholerine, die spontan heilte.

Sawtschenko, Sabolotny und Metschnikoff haben neuerdings große Mengen einer lebenden Cholerabazillenkultur getrunken, ohne zu erkranken; die vorausgegangene Einführung von abgetöteten Kulturen war dabei sicherlich ohne Einfluß. Auch Dr. Rueger in Elberfeld und Dr. Wall in Budapest u. a. haben Autoinfektionsversuche angestellt, welche ohne Erkrankung verliefen. Wall hat vier Versuche ausgeführt. Bochefontaine¹⁾ nahm 5 ccm frischer kommbazillenhaltiger Choleraejektion mit Sem. Lycopod. und Gummi in Pillenform; es stellten sich wie bei den Autoinfektionen Prof. Strickers etwas Fieber, Brechneigung und etwas Dysurie, aber nicht einmal Diarrhöe, sondern sogar Verstopfung ein, die durch Bitterwasser samt allen anderen Symptomen rasch beseitigt wurde.

Bei der Choleraepidemie 1831/32 in Hamburg trank nach Dr. Zimmermann ein Kind die von seinem an Cholera erkrankten Vater entleerten Dejekte in der Meinung, daß dieselben »Welge« — ein Hamburger Gericht aus Milch, Zucker und Mehl — seien. Das Kind blieb gesund. Nach Dr. Jochner trank im Jahre 1873 in der Münchener Vorstadt Haidhausen ein achtjähriger Knabe aus einem Maßkrug, in den kurz vorher sein tags darauf an Cholera verstorbener Vater einen Reiswasserstuhl entleert hatte. Der Knabe bekam drei Tage Diarrhöe, lag aber nie zu Bett. Auch die ziemlich zahlreichen, zufällig im Laboratorium vorgekommenen Infektionen haben durchweg einen leichten Verlauf genommen. Der erste derartige Fall ereignete sich bei einem Arzt, der im Laboratorium von Robert Koch einen Cholerakurs mitmachte; er erkrankte sehr leicht an Diarrhöe, aber aus seinen Stühlen konnten Cholerabazillen gezüchtet werden. R e n-

1) Compt. rend. Tom. IC, Nr. 20.

vers¹⁾ beobachtete bei einem seiner Assistenten eine leichte Laboratoriumscholera. Voges²⁾ infizierte sich mit frisch aus Cholerastuhl gezüchteten Vibrionen, bekam aber nur einen mittelschweren Anfall, obgleich die Kultur von einem schweren Fall aus dem algiden Stadium stammte und zehnmal durch Meeresschweinchen gegangen war. Auch Prof. Dr. R. Pfeiffer in Breslau erkrankte im Juni 1893 infolge einer Laboratoriumsinfektion nur ganz leicht.

Die einzige, bei einem Bakteriologen (Dr. Oergel, Hamburg) tödlich verlaufene Cholera ist in bezug auf die Ursache und Art und Weise der Infektion unaufgeklärt und darf aus Gründen, die in dem Buche Max Pettenkofers, Bodenlehre der Cholera indica usw. S. 142, auseinandergesetzt sind, nicht zu den Laboratoriumsinfektionen gerechnet werden.

Wenn man alle absichtlichen und zufälligen, aber sicheren Infektionen mit Dejektions-Cholera Bazillen zusammennimmt, so ergeben sich 53 Fälle, welche sämtlich ohne Ausnahme einen nicht tödlichen, meist leichten Verlauf nahmen, während bei der echten Cholera stets und überall auf dem Lande eine gesetzmäßige Sterblichkeit von 50 bis 60% zu konstatieren ist. Würde sich die Cholera, wie Koch glaubte, durch direkte Übertragung der Dejektions-Cholera Bazillen verbreiten, dann hätten bei den 53 Versuchen mindestens 25 Todesfälle vorkommen müssen. Aber kein einziger hat sich ereignet! Durch diese 53 ganz gleich verlaufenden Experimente wird somit gleichfalls mit mathematischer Evidenz der Beweis für die Richtigkeit des Übertragungsgesetzes der Cholera erbracht; »Dejektions-Cholera Bazillen vermögen nur Cholera und Cholera diarrhoe, keine tödliche Cholera zu verursachen.«

Zu den Versuchen über die Wirkung von Dejektions-Cholera Bazillen auf Menschen muß man auch die Beobachtungen über die Folgen rechnen, welche der Genuß von Trinkwasser hatte, welches notorisch mit Cholera dejektionen oder mit bakterio-

1) Deutsche med. Wochenschrift 1895, S. 52.

2) Zentralbl. f. Bakt. 1895, Bd. 18, S. 629.

logisch nachgewiesenen Cholera Bazillen infiziert war. Das Wasser wird ja in der Regel mit Dejektions-Cholera Bazillen infiziert, und wenn diese keine tödliche Cholera verursachen können, so darf der Genuß solchen Wassers niemals tödliche Folgen haben. Und so ist es auch!

M a c n a m a r a¹⁾, der davon überzeugt ist, daß das Trinkwasser als Choleraursache eine große Rolle spielt, berichtet, daß 19 Personen Wasser aus einem Gefäß tranken, in welches »wie mit positiver Evidenz erwiesen wurde«, zufällig Choleraexkrementen gelangt waren. Fünf erkrankten an Choleraerscheinungen, aber kein einziger tödlich, und 14 blieben ganz gesund.

K l e i n und G i b b e s²⁾ berichten, daß sie am 26. November in Kalkutta das Wasser eines Tanks bakteriologisch untersuchten, in dessen Umgebung in der ersten Novemberwoche ein Cholerafall vorgekommen war. Sie konnten Cholera Bazillen in diesem Wasser nachweisen. Trotzdem aber und trotz des ausgiebigen Gebrauches, den die Anwohner von diesem cholera-vibrionenhaltigen Wasser gemacht hatten, ist unter ihnen im Laufe der folgenden Wochen die Cholera nicht ausgebrochen. »Die Kommabazillen im Wasser des Tanks«, sagten Klein und Gibbs, »sind eine Folge des Umstandes, daß in der Nähe des Tanks Cholera Kranke gelebt haben, sie sind aber nicht die Ursache der Cholera«. Prof. S t r i c k e r³⁾ fügt hinzu: »Dieses Beispiel zeigt, daß Cholera Bazillen von Menschen genossen werden können, ohne jene Folgen zu äußern, die nach den Vermutungen K o c h s erwartet werden durften.« Für uns ist dieses Resultat selbstverständlich, weil Dejektions-Cholera-vibrionen keine tödliche Cholera erzeugen können. Eine Studentin, welche in St. Petersburg eine starke Suspension eines zwei Tage früher aus Newa-wasser gezüchteten Cholera-vibrio verschluckte, erkrankte nur an Cholera und erholte sich rasch.⁴⁾

1) A Treatise on asiatic Cholera. London 1870, S. 196.

2) The Bacteria in Asiatic Cholera London 1889 und Cholera Inqu. 1885, S. 36.

3) Studien zur Cholerafrage. Leipzig und Wien, F. Denticke 1893, S. 3.

4) Berliner klinische Wochenschrift 1909, S. 1972.

Wir könnten noch viele Tatsachen aufführen, welche in gleicher Weise das Übertragungsgesetz bestätigen. Aber wozu? Für den objektiv Denkenden ist es durch die große Zahl der aufgeführten Tatsachen sicher erwiesen. »Wer frei, in des Wortes weitester Bedeutung, denken und handeln will, der wird berücksichtigen müssen, was unabänderlich geschieht, was notwendig geschehen muß, damit er nach dem, was unabänderlich, ausnahmslos geschieht, seine Entschlüsse und Handlungen einrichten kann.«¹⁾ Es ist schon viel erreicht, wenn wir das Gesetz einer Erscheinung, wie das der Choleraverbreitung, erkannt haben, noch viel mehr aber, wenn wir es auch verstehen und ursächlich erklären können. Wir haben das Übertragungsgesetz formuliert und die Richtigkeit desselben bewiesen. Nunmehr ist es unsere Aufgabe, die kausale Erklärung für dasselbe zu geben und zu begründen, und dies soll durch die folgenden experimentellen Untersuchungen geschehen. Die Basis derselben ist die Tatsache, daß Nitrite und freie salpetrige Säure das primäre Cholera Gift darstellen. Die Richtigkeit dieser Tatsache wird durch die folgenden Befunde erwiesen:

1. Im Erbrochenen, in den Reiswasserstühlen sowie im Harn des Choleraanfalles lassen sich **konstant** reichliche Mengen von Nitrit bzw. salpetriger Säure nachweisen, welche allein schon zur tödlichen Wirkung ausreichen.

Die freie salpetrige Säure ist ein furchtbares Gift, nicht als Säure, sondern durch ihre energischen Oxydationswirkungen und dadurch, daß sie in die Amidogruppen des lebenden Eiweißes eingreift und so die Zellen tötet.

2. Alle pathologisch-anatomischen Veränderungen sowie die Krankheitserscheinungen bei Cholera und Choleratyphoid lassen sich **nur** als Wirkungen von salpetriger Säure und Nitrit sowie als Folgen der durch dieselben bedingten Epithelzerstörung der Intestinalmukosa und in den Harnkanälchen sowie der hochgradigen Oxydationsstörung erklären.

1) Paul V o l k s m a n n: Erkenntnistheoretische Grundzüge der Naturwissenschaften usw. Leipzig und Berlin, B. Teubner 1910, S. 79.

3. Nach Dr. Capellani's Untersuchungen reagiert selbst noch in der Choleraleiche der Saft der Dünndarmschleimhaut in der Hälfte aller Fälle sauer, und er enthält salpetrige Säure, obgleich durch den Reiz der salpetrigen Säure auf die Schleimhaut ein mächtiger Transsudationsstrom in den Darm eingeleitet wurde, der durch starke alkalische Reaktion neutralisierend wirkt.

4. Durch Einführung von 1 g Natriumnitrat und Cholera-vibrionen in Milch oder Eiereiweiß in den Magen von 500 bis 600 g schweren Meerschweinchen kann man, wie auch Choukévitch¹⁾ feststellte, eine choleraähnliche Nitritvergiftung hervorrufen. Versuche mit gegenteiligem Resultat, welche Bürgers ausführte, sind fehlerhaft angestellt, insofern derselbe zu geringe Nitratmengen (nur 0,5 g) einführte usw.

5. Durch Einführung von 0,5 g Natriumnitrit in den Magen von Kaninchen, welche 24 Stunden hungerten, kann man eine Ablösung des Epithels der Magen- und Dünndarmschleimhaut herbeiführen, und zwar ganz so, wie man dies auch bei der Schleimhaut des menschlichen Darms bei Cholera beobachtet. Bei den so vergifteten Tieren sind schon eine halbe Stunde nach Einführung des Giftes reichliche Mengen von Nitrit im Harn nachweisbar, wodurch es höchst wahrscheinlich wird, daß auch zu Beginn des Choleraanfalles das ins Blut gelangte Nitrit binnen kurzer Zeit in den Harn und die Körpergewebe abgegeben wird, so daß solches im späteren Verlauf des Choleraanfalles nicht mehr im Blute nachweisbar ist.

6. Der Choleraanfall beginnt, wie Virchow festgestellt hat, stets nach reichlicher Nahrungsaufnahme, und zwar muß es nitratreiche Nahrung sein, da die Cholera-vibrionen aus diesen Nitraten das Cholera-gift, die salpetrige Säure, bilden.

7. Die einzige Menschenkategorie, welche ausschließlich von nitratfreier Nahrung lebt, die Brustsäuglinge, sind choleraimmun, weil im Magen und Darm derselben Nitritbildung durch Cholera-vibrionen wegen des Mangels der Nitrate nicht möglich ist. Dies

1) Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera etc. München 1910. J. F. Lehmanns Verlag S. 106.

ist eine fundamentale Tatsache von durchschlagender Beweiskraft dafür, daß einzig und allein Nitrite und salpetrige Säure die Cholera verursachen.

8. Chemische Stoffe, welche die salpetrige Säure in unschädliche Verbindungen überführen, wie z. B. Kalium hypermanganic, welches sie zu Salpetersäure oxydiert, haben sich als erfolgreiche Mittel zur Behandlung der Cholera bewährt.¹⁾

Die Entwicklungshemmung und Abtötung von Choleravibrionen beim Durchgang durch den Choleradarm.

Wenn die lokalistische Lehre und die von Emmerich modifizierte Erkenntnis Pettenkofers richtig ist, daß die Choleravibrionen der Darmdejekte nur leichte Cholera oder Choleradiarrhöe, aber keine tödliche Cholera verursachen, dann muß eine Verminderung des Giftbildungsvermögens der Vibrionen beim Darmdurchgang und eine Erhöhung desselben auf disponiertem Erdboden stattfinden.

Eine Reihe von Tatsachen spricht für die Richtigkeit dieser Annahme.

G u t t m a n n²⁾ hat in Ausstrichpräparaten von Cholera-Stühlen sehr zahlreiche Kommabazillen beobachtet, während auf der Gelatineplatte nur vereinzelte Kolonien aufgingen, und er schließt daraus, daß wahrscheinlich eine große Zahl der Vibrionen des Cholera-Stuhles nicht mehr entwicklungsfähig ist. Die gleichen Beobachtungen haben Flügge, Hueppe, Schottelius u. a. gemacht. Sehr oft wurde beobachtet, daß auf Gelatineplatten keine Entwicklung von Vibrionen aus Cholera-Stuhl erfolgte, während in Peptonwasser das Wachstum solcher konstatiert

1) Nach L. Rogers (Britisch Medic. Journ. 1910, S. 835) kamen bei den schweren Kollapsfällen früher nur 10% Genesungen in Kalkutta vor, während seit Einführung der hypertonischen Injektionen und der Kaliumpermanganatbehandlung die Zahl der Genesungen auf 68,1%, also um das Siebenfache bei den schweren, früher fast immer tödlich verlaufenen Cholerafällen gestiegen ist.

2) Berliner klinische Wochenschrift 1892, S. 972.

werden konnte, was ebenfalls dafür spricht, daß die Cholera-vibrionen im Choleradarm eine starke Entwicklungshemmung erfahren. Auch G a f f k y¹⁾ und W e r n i c k e²⁾ berichten über wechselnden, bald positiven, bald negativen Vibrionenbefund auf Gelatineplatten bei ein und denselben Kranken sowie über echte, meist leichte Cholerafälle, bei denen durch die Kultur keine Cholera-bazillen nachweisbar waren, obgleich die mikroskopischen Präparate im Ausgangsmaterial verdächtige Vibrionen gezeigt hatten.

E. v. E s m a r c h³⁾ hat bei der Choleraepidemie des Jahres 1894 in Grieslienen (Ostproußen) bei einer größeren Anzahl Personen, welche nur leicht erkrankt und bald wieder genesen sind, sowie bei einigen anderen, die stärker mit ausgeprägten, klinischen Cholerasymptomen erkrankten, zuweilen selbst bei mehrfacher Untersuchung Cholera-bazillen nicht nachweisen können. E s m a r c h konstatierte ferner, daß öfters, wenn nur wenige Cholera-bazillen in den Fäzes waren, die Übertragung kleinerer Mengen in Peptonwasser resultatlos blieb, während die Verimpfung sehr großer Fäzesquantitäten (10 bis 20 ccm in 200 ccm Peptonwasser) noch zu einem positiven Resultat führte. Auch W e r n i c k e hebt hervor, daß Bazillenträger »gelegentlich auch solche Bazillen ausscheiden, die in ihrer Wachstumsenergie für Verhältnisse außerhalb des Körpers geschwächt, selbst in dem Cholera-vibrionen für ihr Wachstum sonst so zusagenden Peptonwasser sich zunächst nicht vermehren.«

Sehr eingehende, zahlreiche Untersuchungen über die vorliegende Frage hat Dr. Th. R u m p e l⁴⁾ bei der Hamburger Epidemie 1892/93 ausgeführt. Nach seinen in allen Details beschriebenen Befunden kommt es in allen Stadien der Cholera asiatica vor, daß die Bazillen durch Plattenkulturverfahren an einem Tag gar nicht zur Entwicklung kommen, während sie an den vorhergehenden oder folgenden Tagen wieder wachsen. Auch bei Anwendung der Vorkultur in Bouillon nach S c h o t t e l i u s

1) Klin. Jahrbuch, Bd. 16, S. 331.

2) Ebenda, S. 375.

3) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. B. 12 S. 39.

4) Die bakteriologischen Befunde der Cholera im Jahre 1892. Jahrbücher der Hamburger Staatskrankenanstalten, Bd. 3, Sonderabdruck.

und des subtileren Peptonwasserverfahrens sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden, weshalb sich R u m p e l zu dem Schlusse berechtigt hält, »daß in dem Darm selbst ein zeitweises Absterben der Kommabazillen unter wechselnden Bedingungen stattfindet«, und er trifft den Nagel auf den Kopf, indem er sagt: »Wenn demnach selbst bei fortschreitendem Krankheitsprozeß ein zeitweiliges Absterben der zur Entleerung gelangenden Bazillen möglich ist, so müssen jedenfalls auch graduelle Abstufungen in diesem Abtötungsprozeß vorkommen,« und man muß annehmen, daß die noch lebend ausgeschiedenen Vibrionen mehr oder weniger weitgehende Schädigungen in ihren wesentlichen Funktionen, insbesondere auch im Giftbildungsvermögen erlitten haben.

Experimentelle Untersuchungen über die Herabsetzung des Nitritbildungsvermögens der Cholera-vibrionen durch freie salpetrige Säure und die Erhöhung dieser Fähigkeit im disponierten Boden.

Heutzutage sind wir imstande, die Frage, ob die Cholera-vibrionen beim Darmdurchgang durch die von ihnen gebildete salpetrige Säure eine Abschwächung ihres Nitrit- i. e. Giftbildungsvermögens erfahren, durch das Experiment zu entscheiden, und ebenso vermögen wir die vielumstrittene Lehre der Erhöhung des im Darm verminderten Reduktionsvermögens der Vibrionen auf für Cholera disponiertem Boden der experimentellen Bearbeitung und Erklärung zuzuführen.

Die experimentelle Prüfung beider Fragen hat zu ganz unterschiedenen positiven Ergebnissen geführt.

Auch die entschiedensten Gegner der lokalistischen Lehre müssen bei Betrachtung der folgenden Kurven zum mindesten einsehen, daß dieselbe von heute an keine affaire négligeable mehr ist, und daß sie das Recht beanspruchen darf und muß, bei der staatlichen Seuchengesetzgebung an erster Stelle berücksichtigt zu werden.

Durch die folgenden Kurven wird der experimentelle Beweis für die Abschwächung des Nitritbildungsvermögens der Cholera-

vibrionen bei der Menschendarmassage durch die von ihnen gebildete freie salpetrige Säure sowie für die Erhöhung der Nitritbildungsfunktion der Vibrionen beim Wachstum auf für Cholera disponiertem Boden überzeugend erbracht. Die beiden Versuche, deren Resultat durch die Kurven veranschaulicht wird, wurden in folgender Weise ausgeführt: Kiesboden von der Oberfläche des Hofes eines auch heute noch nicht kanalisierten Hauses der Fallmeyerstraße, in welchem bei der letzten Choleraepidemie (1873) mehrere Cholerafälle vorgekommen waren, wurde nach mehrmonatlicher großer Trockenheit entnommen. Im Laboratorium wurde dieser Boden sofort bei 40° C getrocknet und bei 2 Atm. sterilisiert, 20 cm hoch in eine Emmerichsche Bodenröhre gefüllt und mit dieser in 0,5 proz. Nitratsbouillon gestellt, bis der Boden davon kapillar durchtränkt war. Alsdann wurden in Graz kurz vorher aus einem Cholerafall gezüchtete Dejektions-Cholera-vibrionen, welche weiterhin durch 16 Minuten langes Verweilen in einer 1:20 000 verdünnten Salpetrigsäurelösung (s. Tab. C, Rubrik 1:20 000 16 Minuten) eine starke Beeinträchtigung des Nitritbildungsvermögens erlitten hatten, auf die Oberfläche der Bodensäule geimpft (3 Tropfen einer stark verdünnten Suspension). Gleichzeitig wurden zur Kontrolle die Cholera-vibrionen aus Graz (= Dejektionsvibrionen) und dieselben Vibrionen, welche 16 Minuten in 1:20 000 NO_2H verweilt hatten, in 30 ccm 0,5 proz. Natriumnitratsbouillon übertragen und beide, der Boden und die beimpften Nitratsbouillonproben (= Kontrollen), blieben nun 3 Tage bei 36° C nebeneinander stehen. Nunmehr wurden die Vibrionen der Bodenoberfläche und aus der Kontrolle (Nitratsbouillonkulturen) aufs neue in je 30 ccm der gleichen 0,5 proz. Natriumnitratsbouillon übertragen, in 36° C aufbewahrt und in Intervallen von 24 Stunden der Nitritgehalt bestimmt.

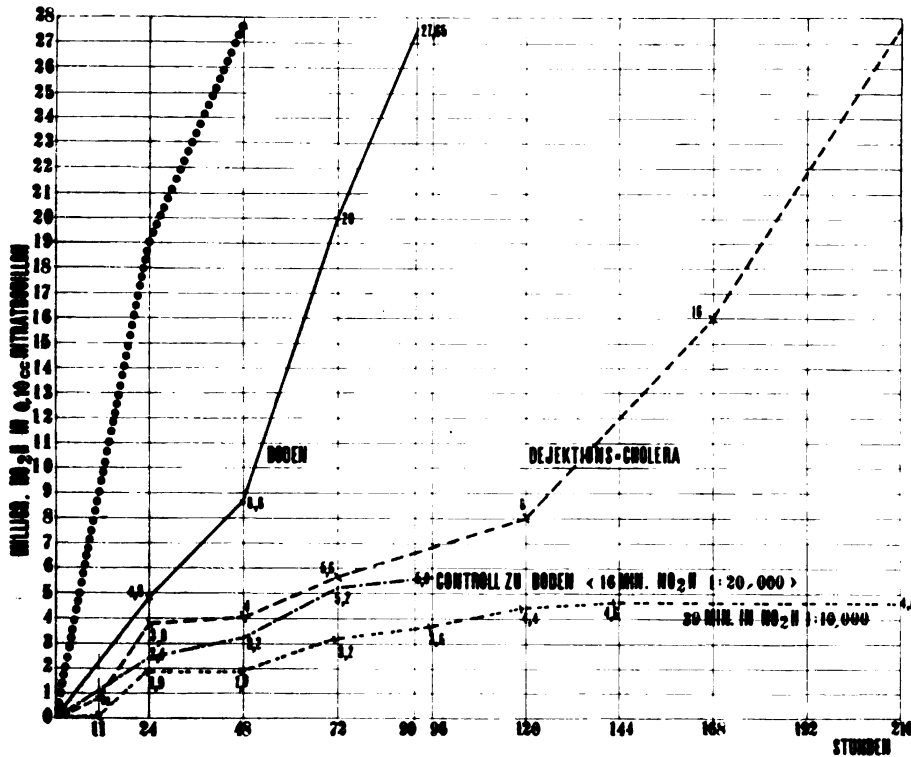
Die Dejektions-Cholera-vibrionen, welche wenige Wochen vor Ausführung unseres Versuches in Graz aus einem mittelschweren, nicht tödlichen Fall gezüchtet waren, hatten, wie es Emmerichs Salpetrigsäurelehre der Cholera verlangt, und wie die gestrichelte (unterbrochene) schwarze Kurve ersehen läßt, eine sehr langsame Nitritbildung. Diese beim Cholerafall schon einmal von salpetriger

Säure beeinflussten und dadurch abgeschwächten Vibrionen wurden nun nochmals einer Salpetrigsäurelösung 1:20 000 genau 16 Minuten lang ausgesetzt. In dieser Verdünnung kommt die salpetrig-Säure, wie E m m e r i c h in Petersburg 1909 und in Konstantinopel 1910 ermittelte, oft, man kann wohl sagen regelmäßig im Magen und Darm der Cholerakranken vor, und auch die Einwirkungsdauer von 16 Minuten entspricht den natürlichen Verhältnissen. Diese Vibrionen waren also so behandelt, wie wenn sie nach der ersten Magen-Darmpassage bei dem Cholerafall in Graz nochmals durch den Magen und Darm eines Cholerakranken hindurchgegangen wären. Nunmehr waren die Vibrionen so stark abgeschwächt, daß sie in 13 Tagen nur noch 6 mg salpetrige Säure zu bilden vermochten. Es ist klar und zweifellos: So stark abgeschwächte und kaum noch Gift d. i. Nitrit bildende Vibrionen vermögen keine tödliche Cholera, ja nicht einmal Cholerae, sondern höchstens Choleradiarrhöe oder nur Infektionen ohne Erkrankung d. h. Bazillenträger zu verursachen.

Bei der zweiten, gleichzeitig mit der Übertragung auf den verunreinigten, disponierten Boden vorgenommenen Überimpfung in 0,5 proz. Nitratbouillon erholten sich diese stark geschwächten Vibrionen etwas, aber sie bildeten in 4 Tagen, wie die 2. Kurve von unten (Kontroll zu Boden) zeigt, auch nur 5,6 mg salpetrige Säure, sie waren also auch jetzt noch unfähig, eine tödliche Cholera oder auch nur eine Cholerae zu erzeugen. Klipp und klar ist daher, daß die 0,5 proz. Nitratbouillon keinen wesentlichen ursächlichen Anteil hat an der so überraschenden und bedeutenden Steigerung des Nitritbildungsvermögens dieser stark abgeschwächten Vibrionen auf dem disponierten Boden. Es kann daher nur der Boden selber, d. h. seine physikalische oder chemische Beschaffenheit, verbunden mit den Besonderheiten des kapillaren Flüssigkeitsstromes, sein, durch welche diese merkwürdige Wirkung verursacht wird, welche die folgende Tabelle und die vierte ausgezogene Kurve von unten auf der folgenden Kurventafel demonstriert.

Choleravibrionen auf disponiertem Boden.

Dauer der Kultur in 0,5proz. Nitratbouillon	16 Min. in 1:20 000 NO_2H ab- geschwächte und vom 7. bis 10. VII. neben dem Boden in Nitrat- bouillon bei 36° C aufbewahrte und dann wieder in 0,5proz. Nitratbouillon übertragene Vibrionen	Dieselben 16 Min. in 1:20 000 NO_2H abgeschwächten und vom 7. bis 10. VII. auf disponiertem Boden bei 36° gewachsenen und dann in 0,5proz. Nitratbouillon übertragenen Vibrionen
24	2,4 mg NO_2H	4,8 mg NO_2H
48	3,2 „ „	8,6 „ „
72	5,2 „ „	20,0 „ „
90	5,6 „ „	27,65 „ „



Die Zahlenreihen der obigen Tabelle sind nebst anderen in der obigen Kurventafel graphisch dargestellt. In diesen Kurven kommandiesämtlichenTatsachendesCholera-übertragungsgesetzes zum Ausdruck, und es wird durch diese Kurven der experimentelle Beweis für die Richtigkeit derselben erbracht. Die Zahlen für die in NO_2H 1:20 000 abgeschwächten Choleravibrionen sind in der zweiten Kurve von

40 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

unten, und die Zahlen für die gleichen, aber nach der Abschwächung 3 Tage auf dem Boden gewachsenen Vibrionen in der vierten ausgezogenen Kurve von unten dargestellt. Steil erhebt sich dieselbe, und in weniger als 4 Tagen ist alles Nitrat (50 mg pro 10 ccm Bouillon) in salpetrige Säure (27,65 mg) verwandelt, während dieselben abgeschwächten, aber neben diesem Boden 3 Tage in 0,5 proz. Nitratbouillon fortgezüchteten Vibrionen in der gleichen Zeit nur 5,6 mg NO_2H bildeten. Nach weiterer dreimonatlicher Trockenheit entnahm Frau Dr. Chwilewizky aus dem gleichen Hofraum in der Fallmeyerstraße wiederum Boden. Derselbe wurde bei 40°C rasch getrocknet, unsterilisiert in eine Emmerichröhre eingestampft und in destilliertes Wasser gestellt. Nach kapillarer Durchfeuchtung der Bodensäule wurde deren Oberfläche mit denselben abgeschwächten Dejektionsvibrionen besät wie beim vorigen Versuch, deren Nitritbildungsvermögen sich inzwischen nur wenig vermehrt hatte, da sie in 24 Stunden in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon nur 5 mg und in 48 Stunden im ganzen auch nur 5 mg salpetrige Säure (also nicht mehr als nach 24 Stunden) gebildet hatten. Die Wirkung dieses hochdisponierten Bodens, in dem nach zirka fünfmonatlicher Trockenheit (Juni, Juli, August, September, Oktober 1911) die Bodenoberfläche durch den kapillar aufsteigenden Flüssigkeitsstrom sehr stark mit Nährstoffen versehen wurde, war eine überraschend starke und viel weitergehende als im vorigen Versuch. Diese bedeutende Erhöhung des Nitritbildungsvermögens der Vibrionen auf dem nicht sterilisierten Boden vollzog sich, was besonders bemerkenswert ist, unter ganz natürlichen Bedingungen. Von oben (links) die erste dicke, schwarzpunktierte Linie der Kurventafel veranschaulicht diese Wirkung des Bodens und läßt ersehen, daß diese Bodenvibrionen in den ersten 24 Stunden 19 mg salpetrige Säure in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildet und schon nach 48 Stunden alles Nitrat (50 mg) zu salpetriger Säure (27,65 mg) reduziert hatten. Wenn sich ein mit solchen Bodenvibrionen infizierter Mensch mit der Nahrung 1 bis 1,5 g Natriumnitrat, z. B. durch den Genuß eines großen Rettichs, zuführt, dann werden diese

Boden-Choleravibrionen im Dünndarm innerhalb 24 Stunden 0,38 bis 0,57 g freie salpetrige Säure, also zweifellos Mengen solcher bilden, welche die schwersten Cholerasymptome (große Schwäche, Übelkeit, Ohnmacht, Erbrechen, Zyanose, Krämpfe usw.) und den Tod verursachen.

Dejektions-Cholerabazillen wie die aus Graz (dritte, gestrichelte schwarze Kurve auf Kurventafel I) erzeugen dagegen in der gleichen Zeit bei genau derselben Nitrataufnahme mit der Nahrung nur 0,06 bis 0,09 g freie salpetrige Säure im Darm, die nichts weiter als eine Choleradiarrhöe ohne Vergiftungserscheinungen (d. h. ohne Zyanose, Krämpfe, Erbrechen usw.) erzeugen können.

Choleravibrionen endlich, welche so stark abgeschwächt sind wie es die beiden ersten Kurven von unten ersehen lassen, werden überhaupt keine nennenswerten Krankheitserscheinungen zur Folge haben, da sie unter genau den gleichen Verhältnissen (1 bis 1,5 g Nitrataufnahme mit der Nahrung) nur 0,06 g salpetrige Säure zu bilden vermögen. Die Personen, welche solche Vibrionen im Darm beherbergen, können nur als Bazillenträger bezeichnet werden. Durch die aus der ersten, dick punktierten Kurve der Kurventafel I ersichtliche, bedeutende Steigerung des Nitritbildungsvermögens der Choleravibrionen auf hochdisponiertem, unter ganz natürlichen Verhältnissen befindlichem, nicht sterilisiertem Boden wird Max Pettenkofers geniale Erkenntnis durch das Experiment glänzend bestätigt, die schon vor mehr als 50 Jahren erlangte und heute noch nicht anerkannte und gewürdigte Erkenntnis, nach welcher die »Cholerakeime« nur dann tödliche Cholera und schwere Epidemien mit ca. 50% Sterblichkeit verursachen können, wenn sie nach der Ausscheidung aus dem Darm der Cholerakranken mehrere Tage auf disponierten, verunreinigten Boden kommen, dessen Oberfläche infolge monatelanger Trockenheit (Pettenkofers) mit anorganischen und organischen Nährstoffen angereichert ist (Emmerich). Es muß aber noch ganz besonders hervorgehoben werden, daß so hoch disponierte Bodenproben, welche dieses die Pettenkofersche Lehre bestätigende, experimentelle Resultat ergeben, dieser Lehre entsprechend nicht jeder Zeit, sondern nur nach mehrmonatlicher großer Trockenheit, wie sie

im Sommer und Herbst 1911 herrschte, in nicht kanali-
s i e r t e n S t ä d t e n zu erhalten sind. Man wird daher in Zu-
kunft auch noch mit sterilisiertem Boden, der mit Nitratbouillon
kapillar durchtränkt ist, arbeiten müssen, weil so leichter das
ganze Problem studiert und die Ursache der merkwürdigen Wir-
kung des Bodens leichter festgestellt werden kann, was ja der
Endzweck der Forschung ist. Wir dürfen uns des Vorteils, den
die kausale Analyse für die Forschung bietet, nicht begeben.
In diesem Sinne sagt auch Paul Volkmann¹⁾: »Es ist eine
Aufgabe unserer Erkenntnis, die Erscheinungen, wie sie sich bieten,
aus einer Reihe von Teilerscheinungen zusammengesetzt aufzu-
fassen und zunächst diese Teilerscheinungen in ihrer Reinheit
zu studieren. Erst wenn wir wissen, welchen Anteil jeder Um-
stand einzeln an der Gesamterscheinung trägt, dann beherrschen
wir das Ganze oder haben wenigstens die Mittel dazu, es beherr-
schen zu können.« Auf diesem Wege hoffen wir die Ursache
des auch im Laboratoriumsexperiment so überzeugend hervor-
getretenen Bodeneinflusses bei Cholera noch zu finden. Nach
den inzwischen von Frau Dr. Chwilewizky weiter geführten
Untersuchungen scheint weder die nitrathaltige Nährbouillon
noch die physikalische resp. mechanische Beschaffenheit des
Bodens, sondern nur dessen chemische Zusammensetzung und
der kapillare Flüssigkeitsstrom im Boden für die so beträchtliche
Erhöhung des Nitritbildungsvermögens der Vibrionen von ursäch-
licher Bedeutung zu sein.

Die Herabsetzung des Nitritbildungsver-
mögens der Cholera-vibrionen durch die Sal-
petrigsäurelösungen ist die Folge von Proto-
plasmaveränderungen, welche eine Verminder-
ung des Vermehrungsvermögens der Cholera-
vibrionen verursachen, und ebenso geht die
Erhöhung der Reduktionsfunktion der Vi-
brionen im disponierten Boden parallel mit
einer entsprechenden Steigerung der Ver-

1) Erkenntnistheoretische Grundzüge der Naturwissenschaften usw.
Leipzig und Berlin, B. G. Teubner 1910, S. 150.

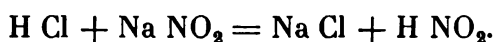
mehrungsfähigkeit. Nach 72 stündiger Kultur, als die aus dem Boden in 0,5% Nitratbouillon übertragenen Vibrionen 20 mg NO_2H und die in der Kontrollnitratbouillon befindlichen erst 5,2 mg NO_2H gebildet hatten, wurde durch Gelatinezahlplatten ermittelt, daß in 1 ccm der mit Boden beimpften Nitratbouillon 325 500 000 Choleravibrionen und in 1 ccm der Kontrollnitratbouillon nur 108 000 000 Choleravibrionen enthalten waren. Die Kontrolle enthielt also dreimal weniger Vibrionen als die Bodenbouillon, und sie hatte dementsprechend auch viermal weniger salpetrige Säure gebildet, nämlich 5,2 mg statt 20,0 mg.

Die Verminderung des Vermehrungsvermögens der Zellen dürfte aber zur Erklärung der Größe der Wirkung nicht ausreichen. Emmerich¹⁾ hat an anderer Stelle darauf hingewiesen, daß die Fähigkeit einer Bakterienart, ihre verlorenen Eigenschaften wieder zu gewinnen, ebenso wie jene Eigenschaft, sie zu verlieren, nach Oskar Loew höchstwahrscheinlich auf spezifische Protoplasmaabteilungen, vielleicht auch Endoenzyme zurückzuführen ist, welche von dem Hauptprotoplasma unter gewissen Umständen erzeugt werden. Bei einem Blick auf die den Bakterien nahe verwandten Algen kann man ja ebenfalls schon sehr verschiedene Protoplasmaabteilungen mit verschiedenen Graden von Sensibilität unterscheiden, so zunächst den aus verhältnismäßig dichtem Protoplasma bestehenden Zellkern, ferner die dem Chlorophyllkörper angehörende Plasmamasse und das Zytoplasma, welches letztere wieder aus der äußeren und inneren Hautschicht besteht, denen beiden ganz verschiedene Funktionen zukommen und von denen die innere Protoplasmahaut oder der sog. Tonoplast das rezistenteste Protoplasmagebilde in der ganzen Zelle darstellt, wie sich z. B. bei der Tötung von Algen mit einer 5—10 proz. Salpeterlösung zeigen läßt. Andererseits läßt sich auch demonstrieren, daß der Zellkern und der Chlorophyll-

1) Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera indica experimentell begründet und weiter ausgebaut von Prof. Dr. R. Emmerich, München. Verlag von J. F. Lehmann 1910, S. 130.

körper viel sensitiver veranlagt sind als das Zytoplasma, was sich bei der Einwirkung von 0,5 proz. Lösung von neutralem Kaliumazetat oder von sehr verdünnten organischen Säuren zeigt. Bei Bakterien muß man, um solche sich fast momentan vollziehende Funktionsänderungen der Zelle wie den Verlust des Nitrit- oder Indolbildungsvermögens zu erklären, ebenfalls eine durch chemische Einwirkung von verdünnter salpetriger Säure bewirkte dauernde Funktionsänderung eines bestimmten Protoplasmakomplexes oder Endoenzyms annehmen.

Für die folgenden Versuche wurden zunächst Lösungen von freier salpetriger Säure sehr verschiedener Konzentration durch die in der Formel ausgedrückte Umsetzung hergestellt:



Außer der bei diesem Prozeß entstehenden Kochsalzmenge wurde noch so viel Kochsalz zugesetzt, daß eine isotonische Lösung entstand. Gewöhnlich wurde eine Versuchsreihe über die Wirkung der Salpetrigsäurelösungen 1:100, 1:1000, 1:5000, 1:10 000, 1:20 000, 1:25 000 sowie der Nitritlösungen 1:100 und 1:1000 ausgeführt.

Nach den Lehrbüchern der Chemie zerfällt die mit Wasser gemischte salpetrige Säure rasch und fortgesetzt in Stickstoffoxyd und Salpetersäure. Wir zweifelten daher sehr, ob es überhaupt möglich sei, Lösungen mit bestimmtem Gehalt an salpetriger Säure mehrere Minuten bis 1 Stunde lang auf die Choleravibrionen einwirken zu lassen. Um diese Frage zu entscheiden, führten wir quantitative Bestimmungen der salpetrigen Säure in den Lösungen 1:1000, 1:10 000 usw. sofort nach deren Herstellung sowie nach 10 Minuten bzw. 30 Minuten usw. aus. Wir waren angenehm überrascht von dem Befund, daß diese verdünnten Lösungen in der genannten Zeit ihren Gehalt an freier salpetriger Säure in größeren Flüssigkeitsmengen unzersetzt behalten. Diese Tatsache ist auch insofern von großer Wichtigkeit, als sie die Erklärung dafür gibt, daß im menschlichen Darm außer den im Beginn des Choleraanfalls gebildeten konzentrierteren Lösungen

von salpetriger Säure auch die durch den Transsudationsstrom verdünnten Lösungen noch ernste Störungen und Krankheitserscheinungen lange Zeit hindurch verursachen können.

Selbstverständlich wurde zunächst festgestellt, ob ein 35 Minuten langes Verweilen der Choleravibrionen in der zu den Versuchen verwendeten physiologischen Kochsalzlösung und im destillierten Wasser eine Abschwächung des Nitritbildungsvermögens verursacht. Dies war, wie die folgenden Zahlen zeigen, nicht der Fall. Es wurde daher bei den folgenden Versuchen nicht nur physiologische Kochsalzlösung zur Bereitung der Lösungen von freier, salpetriger Säure, sondern in einigen Versuchen auch destilliertes Wasser verwendet, da die Cholerakranken oft sehr viel Wasser trinken, so daß im Magen und Darm oft auch wässrige Lösungen der salpetrigen Säure zur Einwirkung kommen werden. Ich habe in Konstantinopel einen an schwerer Cholera erkrankten 44 jährigen Mann beobachtet, der in 1 Stunde nahezu 3 l Wasser trank, worauf sehr heftiges Erbrechen erfolgte; die erbrochene wässrige Flüssigkeit ergab eine starke Nitrit- resp. Salpetrigsäurereaktion.

Es bildeten in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon:

Choleravibrionen	nach 24 stündiger Kultur bei 36° C	nach 48 stündiger Kultur bei 36° C
unverändert	20 mg	27,65 mg
34 Minuten in physiol. Kochsalzlösung	19,5 „	27,65 „
34 Minuten in destilliertem Wasser	19,0 „	27,65 „

Dieselben Choleravibrionen bildeten, nachdem sie 34 Minuten mit einer Salpetrigsäurelösung in physiologischer Kochsalzlösung 1:10 000 behandelt waren, in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon:

nach 24 stündiger Kultur bei 36° C	nach 48 stündiger Kultur bei 36° C	nach 72 stündiger Kultur bei 36° C
11	18	27,65

In den meisten Versuchen war die Verminderung des Nitritbildungsvermögens nicht größer, als wie dies durch die letzten

Zahlen veranschaulicht wird. Diese Abschwächung ist aber schon sehr belangreich; denn während in diesem Fall die unveränderten Vibrionen im Menschendarm nach Einfuhr von 1,5 g Natriumnitrat mit der Nahrung (z. B. durch reichlichen Genuß von Weißkraut oder Rettich) in 24 Stunden 0,6 g salpetrige Säure, also eine tödliche Menge, bilden, erzeugen die 34 Minuten mit salpetriger Säure 1:10 000 behandelten Choleravibrionen unter den gleichen Bedingungen nur 0,3 g salpetrige Säure, die nur eine nicht tödliche Cholera verursachen.

Wir teilen im folgenden hauptsächlich solche Versuche mit, bei denen eine sehr weitgehende Verminderung des Nitritbildungsvermögens erzielt wurde, weil sich bei so starker Wirkung die gesetzlichen Beziehungen am leichtesten erkennen lassen. Die Größe der Wirkung der salpetrigen Säure hängt hauptsächlich von den Eigenschaften des verwendeten Vibrionienstammes ab. Es gibt Stämme, welche schwerer, und andere, welche leichter abzuschwächen sind. Im Menschendarm können außer der salpetrigen Säure auch noch andere Stoffe (Skatol, Indol, Kalkseifen, Phenole) nach R u m p e l¹⁾ zur Abschwächung der Choleravibrionen beitragen.

A u s f ü h r u n g d e r V e r s u c h e .

Beispielsweise wurde der Versuch mit der Salpetrigsäurelösung 1:1000 in folgender Weise vorgenommen:

- 224,5 ccm 0,5 proz. Kochsalzlösung werden mit
- 5,0 » Normal-Natriumnitritlösung = 6,9 g Natriumnitrit in 100 ccm aqua destillata und mit
 - 5,0 » Normal-Salzsäurelösung versetzt

und sofort die fein verteilten Choleravibrionen, und zwar 0,5 ccm einer Suspension von 1 ccm schiefer Agarkultur (24 Stunden alt) in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt. Nach bestimmter Zeit wurden 0,5 ccm vom Bodensatz abpipettiert, mit verdünnter Sodalösung schwach alkalisch gemacht und einige

1) Dr. Th. R u m p e l: Die bakteriologischen Befunde der Cholera im Jahre 1892. Jahrbücher der Hamburger Staatskrankenanstalten, Bd. 3, S. 12.

Ösen davon mit möglichst viel Bodensatz in 30 ccm gut alkalische 0,5 proz. Natriumnitratbouillon übertragen. Nach verschieden langem Stehen dieser Proben bei 36° C wurde alsdann die aus dem Nitrat gebildete Nitritmenge bestimmt und auf salpetrige Säure berechnet. Die Nitritbestimmung geschah nach Gries kolorimetrisch mit folgenden Reagentien:

Lösung I 0,5 g Sulfanilsäure gelöst in 150 ccm 10 proz. Essigsäure,

» II 0,1 » α -Naphthylamin gekocht in 20 ccm aqua destillata und vermischt mit 150 ccm 10 proz. Essigsäure.

Die, eventuell nach vorheriger Verdünnung, genau abgemessenen Mengen Bouillonkultur wurden in 28 cm hohen, mit Glasstöpsel verschließbaren Glaszylindern so weit mit völlig nitritfreiem Mangfall-Leitungswasser verdünnt, daß die Flüssigkeit bis zu der in 20 cm Höhe befindlichen 100-Marke reichte, und nun 2 ccm der Mischung von 1 ccm Lösung I und 1 ccm Lösung II zugesetzt. Aus dem im Verlauf einer Stunde konstant werdenden Grade der Rotfärbung lassen sich durch den Vergleich der ganz gleich ausgeführten Reaktion in Natriumnitritlösungen noch Mengen von 0,01, 0,02, 0,03 usw. mg salpetriger Säure ganz sicher bestimmen, ja sogar die geringen Farbnuancen zwischen Lösungen von 0,01 und 0,015 von 0,02, 0,025 usw. können von geübten Untersuchern noch unterschieden werden. Die Genauigkeit der Methode läßt somit nichts zu wünschen übrig; immerhin aber besitzt die Nitroso-Indolmethode, über welche Frau Dr. Chwilewizky nächstens berichten wird, einige Vorzüge gegenüber der Griesschen Reaktion.

Wenn man nun in dieser Weise die durch salpetrige Säure bewirkte Beeinträchtigung der Nitritbildungsfunktion der Cholera-vibrionen ermitteln will, dann ist man leicht der Irreführung ausgesetzt.

Da man die erste Nitritbestimmung gewöhnlich erst nach 24 Stunden ausführt, so kann man eine große Enttäuschung dadurch erleben, daß man nicht nur in einer, sondern in mehreren

hintereinander durchgeführten Versuchsreihen sowohl bei den Kontroll-Choleravibrionen als bei den den verschiedenen Salpetrigsäureverdünnungen ausgesetzten Kulturproben genau die gleiche in 24 Stunden gebildete Nitritmenge findet; ja es kann sogar vorkommen, daß in der Kontrollbouillon scheinbar einige Zehntelmilligramm salpetrige Säure weniger vorhanden sind. So waren z. B. bei der Versuchsserie C in der Kontrollbouillon nach 24 Stunden nur 1,6 mg salpetrige Säure gebildet, während die 16 Minuten lang mit Salpetrigsäurelösung 1:20 000 behandelten Choleravibrionen scheinbar sogar 2,0 mg und die 17 Minuten lang der Salpetrigsäurelösung 1:25 000 ausgesetzten auch 2,0 mg, also scheinbar etwas mehr als die Kontrollvibrionen gebildet hatten. Diese paradoxe Tatsache erklärt sich aber bald dahin auf, daß es sich bei dieser scheinbaren Mehrproduktion nur um einige Zehntelmilligramm salpetrige Säure handelte, die in der geringen in die Bouillon mit übertragener Menge der Salpetrigsäurelösung 1:20 000 enthalten waren. Wer sich mit dieser einzigen, nach 24 Stunden ausgeführten Bestimmung begnügt oder sich durch das zunächst negativ erscheinende Resultat abhalten läßt, weiter zu untersuchen, der könnte leicht zu dem Schlusse kommen, daß unsere These von der Abschwächung der Reduktionsfunktion der Choleravibrionen nicht richtig ist. Erst wenn man die Nitritbildung während der ganzen Entwicklungsdauer der Kultur von Tag zu Tag ermittelt, erst dann erkennt man aus den großen Verschiedenheiten der täglich gebildeten Nitritmengen, welche weitgehende Hemmung der Funktion der verschiedenen abgestufte Reiz hervorbringt. Dieselben, von den Salpetrigsäurelösungen 1:20 000 und 1:25 000 16 und 17 Minuten lang beeinflussten Choleravibrionen, welche in den ersten 24 Stunden ebensoviel salpetrige Säure bildeten wie die nicht geschädigten Kontrollvibrionen, hatten nach 240 Stunden, als von den Kontrollvibrionen die vorhandene Gesamtmenge der Nitrate längst vollkommen zu 27,65 mg salpetriger Säure reduziert war, erst 6 resp. 10 mg NO_2H erzeugt (Serie C).

Die folgenden Tabellen geben die Mengen NO_2H , welche Dejektions-Cholera-vibrionen nach der Einwirkung von NO_2H -Lösungen 1:1000, 1:5000 etc. in 10 ccm 0,5 proz. Natriumnitrat-Bouillon gebildet haben.

B.

Dauer der Kultur der von NO_2H beeinflussten Vibrionen in 0,5 proz. Nitratbouillon bei 36° C	Konzentration der NO_2H -Lösungen									
	1:100		1:5000		1:10000		1:20000		1:25000	
	Zeitdauer der Einwirkung der NO_2H -Lösungen und in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete Menge NO_2H in mg									
	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H
24 Stunden . . .	1 1/2 Min.	3,8	5 Min.	3,7	6 Min.	3,2	8 Min.	3,6	8 Min.	4,0
48 " . . .	"	8,0	"	7,5	"	3,6	"	"	"	7,5
96 " . . .	"	8,2	"	8,0	"	3,6	"	"	"	"
360 " . . .	"	8,4	"	12,0	"	"	"	9,0	"	11,0
480 " . . .	"	10,0	"	"	"	27,65	"	"	"	11,2

C.

Dauer der Kultur der von NO_2H beeinflussten Vibrionen in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon bei 36° C	Konzentration der NO_2H -Lösungen									
	1:100		1:10000		1:15000		1:20000		1:25000	
	Zeitdauer der Einwirkung der NO_2H -Lösungen und in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete Menge NO_2H in mg									
	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H	Zeit	NO_2H
24 Stunden . . .	5 Sek.	1,6	14 Min.	2,0	14 Min.	2,1	16 Min.	2,0	17 Min.	2,0
72 " . . .	"	2,0	"	3,8	"	5,0	"	2,0	"	3,0
240 " . . .	"	3,8	"	"	"	"	"	4,0	"	6,0
308 " . . .	"	"	"	"	"	"	"	6,0	"	10,0

D.

		Konzentration der NO ₂ H-Lösungen																				
		1:1000	1:5000	1:10000	1:100000	1:100000 _n	1:100000	1:100000	1:100000	1:100000	1:100000											
Kontrolle: Die nicht mit NO ₂ H behandelten Vibrio-ten bilden NO ₂ H mg																						
Dauer der Kultur von NO ₂ H beinflußten Vibrio-ten in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon																						
19 Stunden	5,25	4	2,75	5	2,75	5	2,75	6	2,70	10	3,55	10	3,65	4 h 20	5,05	15 ¹⁾	2,60	4 h 25	3,55			
43 "	10,4	"	6,0	"	5,9	"	5,6	"	5,6	"	6,0	"	8,8	"	"	"	"	"	5,0			
168 "	20,0	"	10,0	"	8,0	"	5,6	"	5,6	"	8,0	"	11,0	"	"	"	"	"				
190 "	27,65	"	10,0	"	8,0	"	5,6	"	5,6	"	10,0	"	14,0	"	"	"	7,2	"				
216 "	27,65	"																				

1) 15 Min. in NO₂H, 1 h 15 Min. in Nitrit.

E.

Dauer der Kultur der von NO ₂ H beeinflussten Vibrionen und der Kontrollvibrionen in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon bei 36° C	Kontrolle. Die nicht mit NO ₂ H behandelten Vibrionen bildeten NO ₂ H mg	Konzentration der NO ₂ H-Lösungen					
		1:1000		1:10000		1:10000 35'	
						1:30000 4 h	
		Zeitdauer der Einwirkung der NO ₂ H-Lösungen und in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete Menge NO ₂ H in mg					
		Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit	NO ₂ H
nach 4 Stunden	2,5	4	deutlich Spur	20	deutlich Spur	35 Min. 4 1/2 Std.	keine Entwicklung
		5	schwache Spur	25	„		
		6-7	tot	30	schwache Spur		
nach 22 Stunden	3,0	4	1,0	20	3,0	35 Min. 4 1/2 Std.	1,8
		5	1,0	25	3,0		
				30	3,0		
				35	3,0		
nach 26 Stunden	4,25	4	3,0	20	4,0	35 Min. 4 1/2 Std.	2,5
		5	1,5	25	3,9		
				30	3,8		
				35	3,7		
				40	tot		
nach 192 Stdn.	27,65	4	14,0	20	8,4	35 Min. 4 1/2 Std.	15,0
		5	11,2	25	10,0		
				30	10,0		
				35	10,0		
nach 240 Stdn.	27,65			20	8,6		
				30	11,0		

F.

Dauer der Kultur der von NO ₂ H be- einflußten Vibrio- nen und der Kon- trollvibrionen in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon bei 36° C	Kontrolle. Die nicht mit NO ₂ H behan- delten Vibrio- nen bildeten NO ₂ H mg	Konzentration der NO ₂ H-Lösungen					
		1:1000		1:5000		1:10000	
		Zeitraum der Einwirkung der NO ₂ H-Lösungen und in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon gebildete Menge NO ₂ H in mg					
		Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit Min.	NO ₂ H
nach 11 Stunden	0,8	4	0,25	12	0,01	35	Spur
		5	0,05	13	0,008	36	Spur
		6	tot	14	tot	38	minimale Spur
						39	„
nach 24 Stunden	3,8	4	1,9	12	2,7	35	tot
		5	1,8	13	2,5	36	2,2
						38	2,1
						39	2,0
nach 48 Stunden	4,0	4	2,8	12	3,0	35	1,9
		5	2,4	13	2,6	36	3,6
						38	3,4
						39	3,0
nach 72 Stunden	5,6	4	4,0	12	3,4	35	1,9
		5	3,2	13	3,0	36	5,0
						58	4,8
						39	3,8
nach 120 Stdn.	8,0	4	5,0	12	3,6	35	3,2
		5	4,8	13	3,2	36	6,4
						38	5,2
						39	5,2
nach 168 Stdn.	16,0	4	8,0	12	5,0	35	4,4
		5	7,2	13	4,8	36	6,8
						38	6,6
						39	7,6
nach 216 Stdn.	27,65	4	8,0	12	6,2	35	4,6
		5	7,8	13	6,0	36	15,6
						38	7,6
						39	7,6

Die folgenden Proben, welche eine starke Beeinträchtigung des Nitritbildungsvermögens durch NO_2H gezeigt hatten, wurden samt den betreffenden Kontrollproben aufs neue in je 30 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon übertragen, um zu entscheiden, ob die Nitritbildung auch in den frischen Kulturen noch herabgesetzt ist oder nicht, ob also die Verminderung des Nitritbildungsvermögens länger dauernd oder nur vorübergehend ist.

G.

Dauer der Kultur der von NO_2H beeinflussten und Kontrollvibrionen in 100 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon bei 36° C	B. 1:100			B. 1:25 000			C. 1:20 000			C. 1:25 000			D. 1:10 000 u. 1:100 Nitrit			E. 1:10 000			E. 1:10 000				
	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	Kontrolle	Dauer der Einwirkung von NO_2H Min.	Menge von NO_2H gebildete mg	
19 Stunden	nicht mehr entwicklungsfähig	1 1/2	4,4	8	3,6	5,8	16	2,4	17	5,0	5,8	15 u. 1h15'	4,8	5,6	30	4,6	5,6	20	4,8	6,4	20	4,8	6,4
43 "	"	"	4,4	8	3,6	5,8	"	2,4	"	"	5,8	"	6,0	5,6	"	6,4	5,6	"	"	6,4	"	"	6,4
67 "	"	"	"	"	"	5,8	"	4,6	"	"	"	"	6,0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
91 "	"	"	"	"	"	9,4	"	6,0	"	"	"	"	7,0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
115 "	"	"	"	"	"	16,0	"	14,0	"	"	"	"	16,0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
139 "	"	"	"	"	"	16,0	"	14,0	"	"	"	"	16,0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

Der folgende Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß aus den verschiedenen Proben der Versuchsreihe F, nachdem in der Kontrolle alles Nitrat reduziert war, einige Ösen in 0,5proz. Nitratbouillon übertragen und von Tag zu Tag das gebildete Nitrit bestimmt wurde.

Aus F Serie H.

Dauer der Kultur der von NO ₂ H beeinflussten und der sonst nicht beeinflussten Kontrollvibrionen in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon bei 36° C	Kontrolle. Die nicht mit NO ₂ H behandelten Vibrionen bildeten NO ₂ H mg	Konzentration der NO ₂ H-Lösungen					
		1:1000		1:5000		1:10000	
		Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit Min.	NO ₂ H	Zeit Min.	NO ₂ H
nach 24 Stunden	4,0	4	3,8	12	3,6	35	2,6
		5	3,8	13	2,0	36	2,2
						38	2,0
nach 48 Stunden	10,4	4	8,4	12	3,0	35	1,7
		5	6,4	13	2,8	36	4,4
						38	4,0
nach 72 Stunden	11,6	4	10,8	12	8,8	35	3,2
		5	10,2	13	4,0	36	5,0
						38	4,0
nach 96 Stunden	18,0	4	12,0	12	10,0	35	3,6
		5	10,0	13	5,0	36	6,0
						38	4,0
nach 120 Stdn.	22,0	4	13,0	12	10,0	35	3,2
		5	11,0	13	6,0	36	6,4
						38	5,8
				39	5,6		

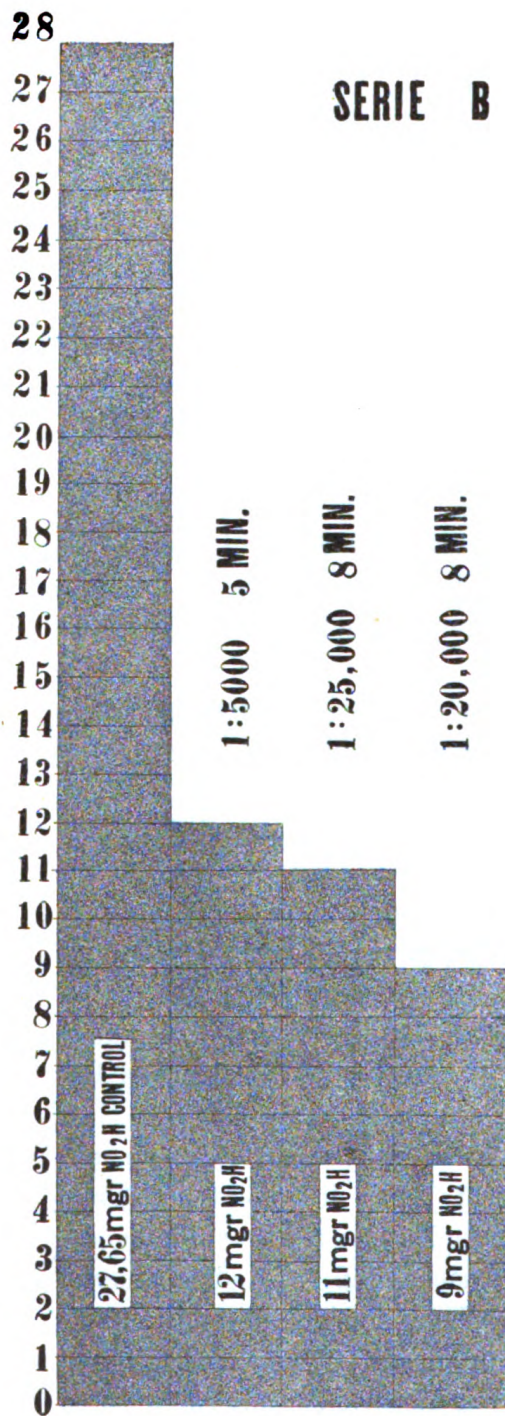
Bei Betrachtung dieser tabellarisch zusammengestellten Untersuchungsergebnisse und beim Vergleich der Reduktionswirkung der Kontrollen mit der Nitritbildung der von verschiedenen konzentrierten Salpetrigsäurelösungen verschieden lange beeinflussten Choleravibrionen tritt die gesetzmäßige Tatsache hervor, daß alle Konzentrationen von 1:100 bis 1:25000 bei genügend langer

Einwirkung eine Verminderung des Nitritbildungsvermögens der Choleravibrionen verursachen. Noch augenfälliger treten bei den folgenden graphischen Darstellungen der nach 96, 190, 214, 240 und 360 stündiger Kultur gebildeten Salpetrigsäuremengen Einzelheiten der gesetzmäßigen Vorgänge hervor.

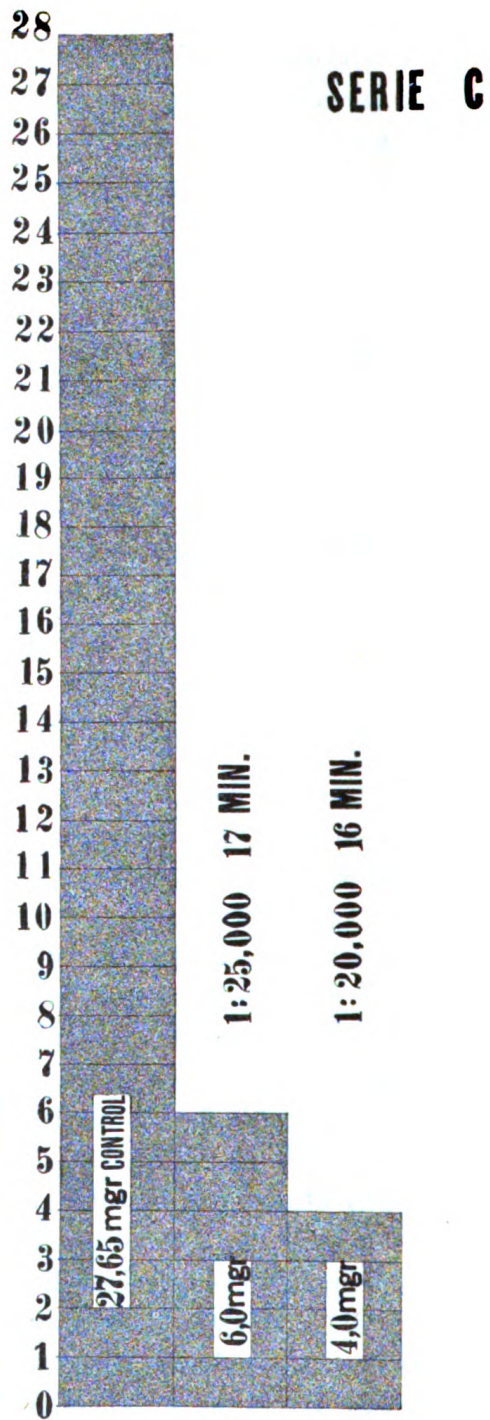
Aus der Tabelle G geht hervor, daß die erneute Übertragung in gut alkalische, 0,5 proz. Nitratbouillon das durch freie salpetrige Säure herabgesetzte Nitritbildungsvermögen wieder erhöht, wenn auch lange nicht vollständig rehabilitiert. In disponiertem, nitrathaltigem Boden dagegen wird das durch freie salpetrige Säure sehr stark verminderte Nitritbildungsvermögen nicht nur vollständig rehabilitiert, sondern sogar über das ursprüngliche Nitritbildungsvermögen der Dejektionsvibrionen weit hinaus gesteigert, insofern als in kürzerer Zeit größere Mengen von Nitrat reduziert werden, als dies bei der ursprünglichen Laboratoriumskultur der Fall war.

Daraus ergibt sich zwar die Möglichkeit, daß unter den natürlichen Verhältnissen der Choleragenese nicht bloß die Übertragung der Choleravibrionen auf alkalisch reagierenden, nitrathaltigen und in sonstiger Beziehung disponierten Boden die Wiederherstellung des geschädigten Nitritbildungsvermögens herbeizuführen vermag, sondern auch wenn auch in viel geringerem Grade die Übertragung auf andere, alkalisch reagierende, nitrathaltige und sonst geeignete Nährmedien. Ob aber solche außer dem Boden in der Umgebung des Menschen (im Haushalt usw.) überhaupt vorhanden sind und ob diese Übertragung unter natürlichen Bedingungen überhaupt vorkommt, ist äußerst zweifelhaft. Um diese Frage zu entscheiden, sind noch viele Untersuchungen und Beobachtungen auszuführen. Es ist jedenfalls eine tausendfach bestätigte, der Genialität P e t t e n k o f e r s zu verdankende, epidemiologische, geschichtliche Tatsache, daß der Boden in bezug auf die Giftigkeitssteigerung der Cholerabazillen die Hauptrolle spielt. Nunmehr ist aber auch durch die obigen Experimente erwiesen, daß der in langen Trockenheitsperioden mit Nährstoffen stark angereicherte, nitratreiche Boden in dieser Beziehung ein

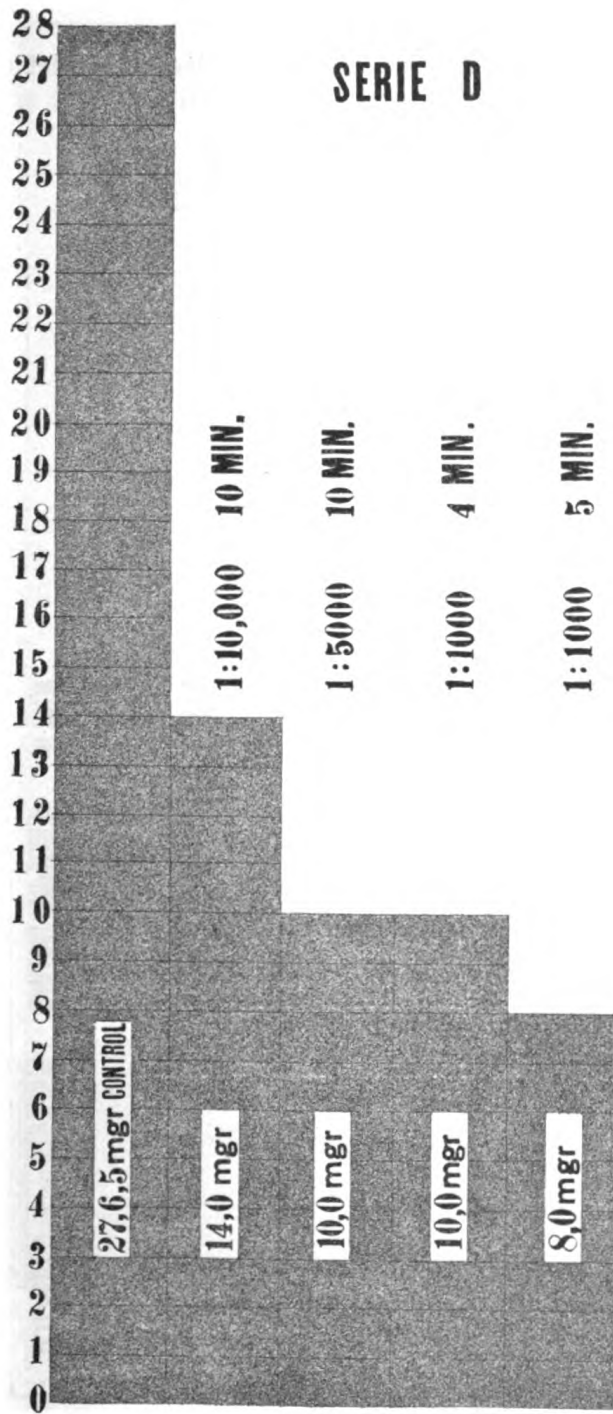
(Fortsetzung des Textes S. 60.)



In 10 ccm Nitratbouillon war in 360 Stunden gebildet NO₂H

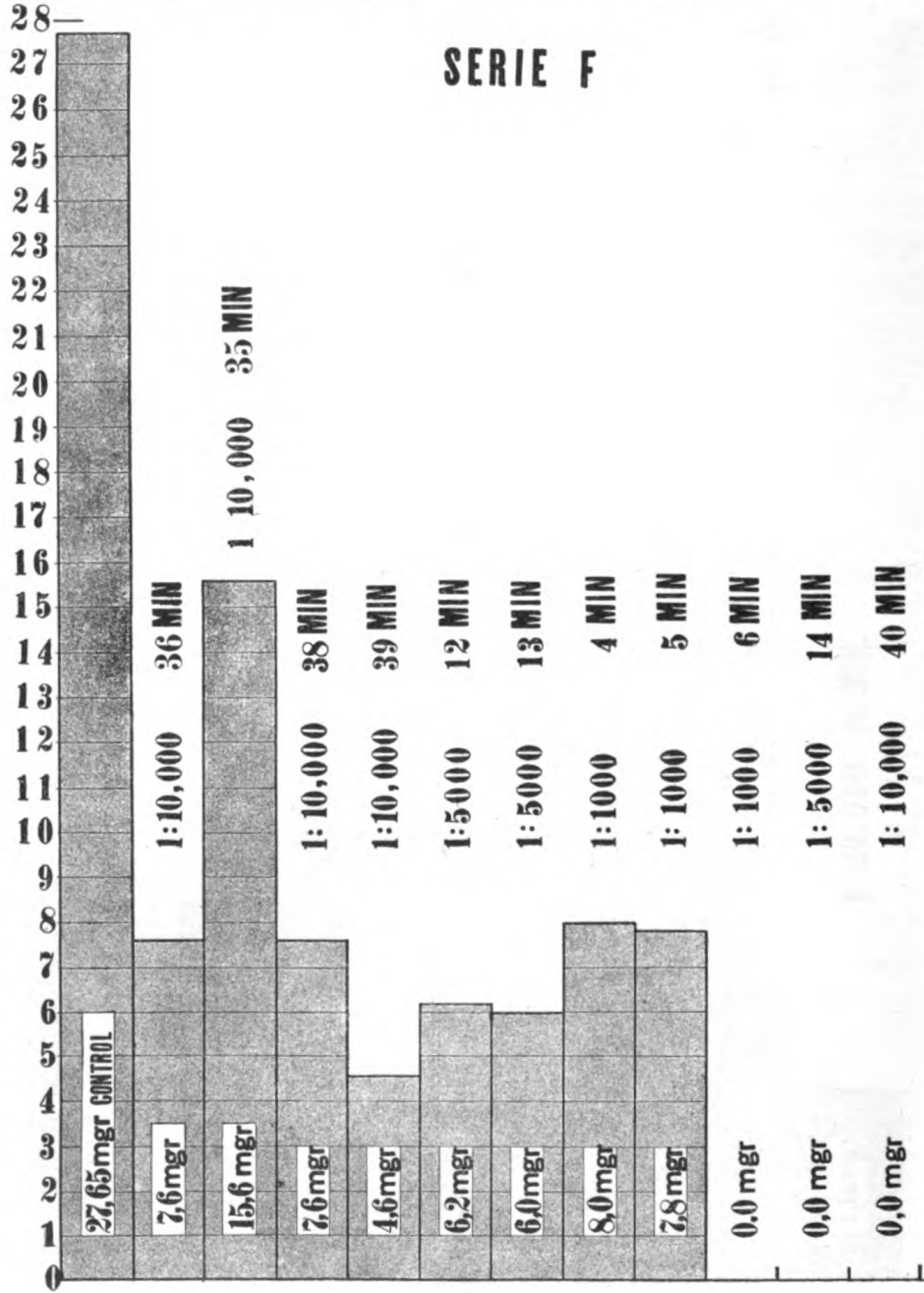


In 240 Stdn. waren in 10 ccm Nitratbouillon gebildet mg NO₂H

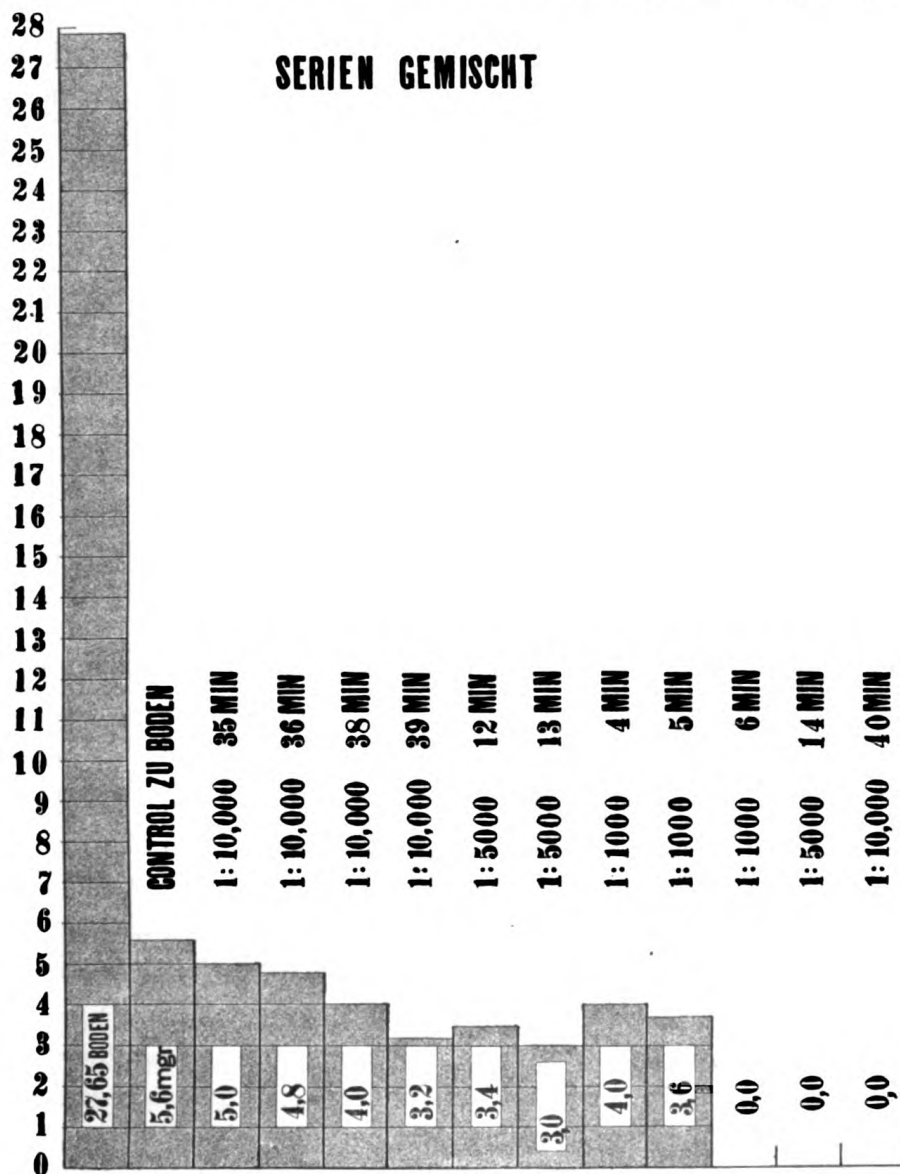


In 190 Stunden war in 10 ccm Nitratbouillon gebildet mg NO_2H

Es waren in 10 ccm Nitratbouillon in 214 Stdn. gebildet mg HO₂H



Es waren in 10 ccm Nitratbouillon in 96 Stdn. gebildet mg NO₂H



souveränes Nährmedium darstellt, welches die im Darm geschädigte Nitritbildung in wenigen Tagen in überraschender Weise derart erhöht, daß die Boden-Choleravibrionen die Nitrate in viel größerer Menge und in viel kürzerer Zeit reduzieren als Dejektions-Cholerabazillen.

Wir bemerken gleich von vornherein, daß es uns bei den obigen experimentellen Untersuchungen nur darauf ankam, im allgemeinen zu entscheiden, ob die freie salpetrige Säure und die Nitrite in den Mengen, in welchen sie im Choleradarm zur Wirkung kommen, überhaupt eine Schädigung und Verminderung des Nitritbildungsvermögens der Choleravibrionen verursachen. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, in welchem Grade die Größe dieser Schädigung von der angewendeten Menge der Vibrionen im Verhältnis der zu variierenden Quantität der verschieden konzentrierten Salpetrigsäurelösungen, sowie von dem Alkalitätsgrad usw. der Nitratbouillon abhängig ist, in welcher die Nitritmengen gebildet werden. Auch die Größe der Wirkungen einer Anzahl anderer in Betracht kommender Nebenumstände wird durch die Fortsetzung dieser Untersuchungen festzustellen sein.

Die obigen Zahlen und Kurven lassen ein gesetzmäßiges Verhalten der Choleravibrionen der freien salpetrigen Säure gegenüber insofern erkennen, als die längere Einwirkung verdünnter Lösungen eine stärkere und längere Zeit anhaltende Herabsetzung des Nitritbildungsvermögens bewirkt als wie die momentane oder sehr kurz dauernde Wirkung konzentrierter Lösungen der salpetrigen Säure.

Wenn nach dem Aufhören des Reizes (hier der salpetrigen Säure) die reizbare Substanz dauernd verändert ist, so bezeichnet S e m o n¹⁾ diese Veränderung als Engramm. Nach den obigen Ergebnissen würde ein längere Zeit einwirkender, schwacher Reiz ebensogut oder noch leichter ein Engramm erzeugen als ein kürzere Zeit einwirkender, starker Reiz, insofern die durch den länger andauernden, schwachen, chemischen Reiz gesetzte Verminderung

1) Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie 1906, S. 1.

des Reduktionsvermögens der Vibrionen längere Zeit hindurch vererbt wird als die durch kurz dauernde, starke Einwirkung verursachte.

Vielleicht eignen sich derartige Versuche, bei welchen man einen quantitativ und zeitlich beliebig abstufbaren Reiz auf die lebende Zelle wirken lassen kann, und bei denen die Intensität und Dauer der Wirkungen oder Folgen der Reize ziffermäßig bestimmt werden können, sehr gut auch zur experimentellen Bearbeitung des Vererbungsproblems und zur Erforschung der Vererbungsgesetze. Paul Ehrlich¹⁾ hat bekanntlich Ähnliches für Trypanosomen gezeigt, von denen durch chemische Einwirkungen erworbene Eigenschaften ebenfalls leicht vererbt werden. Behandelte er mit Trypanosomen infizierte Mäuse mit solchen Mengen Triphenylmethanfarbstoffen (z. B. Fuchsin) oder Benzidinfarbstoffen (z. B. Trypanrot), die zur Abtötung sämtlicher Trypanosomen nicht ausreichten, so wurden die Trypanosomen giftfest und diese Giftfestigkeit wurde vererbt. Ehrlich konnte die giftfesten Trypanosomenstämme (z. B. atoxylfeste) 300 mal durch normale Tiere passieren lassen, ohne daß die Resistenz (gegen Atoxyl usw.) abgenommen hätte. Das gleiche hat Effront bei Hefen durch Gewöhnung an Fluorwasserstoff erzielt, und bei Paramecien sind ähnliche Versuche gemacht worden.

Die von Tag zu Tag von den in Salpetrigsäure-Lösungen geschädigten Choleravibrionen in 10 cem 0,5proz. Nitratbouillon gebildeten Mengen von salpetriger Säure (Differenzen).

Die folgenden Zahlen und Kurven lassen ersehen, daß die Choleravibrionen durch die Behandlung mit salpetriger Säure auch gegen Nitrit sehr empfindlich geworden sind, so daß sie auch durch die geringen von ihnen in der Kultur gebildeten Nitritmengen in ihrem Nitritbildungsvermögen in viel höherem Grade beeinträchtigt werden als nicht geschädigte Choleravibrionen. Das gleiche muß natürlich auch im Menschendarm der Fall sein.

1) Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig 1909.

62 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

F. I. Kontrolle.				F. II. Kontrolle.	
Datum	Dauer der Kultur in Stunden	In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete		In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete	
		Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
1. VII.	22	3,8	3,8	3,8	3,8
2. „	46	4,0	0,2	4,0	0,2
3. „	70	5,6	1,6	6,0	2,0
4. „	94	7,0	1,4	6,4	0,4
5. „	118	8,0	1,0	6,4	0,0
6. „	142	16,0	4,0	16,0	4,8
7. „	166		4,0		4,8
8. „	190	27,65	5,825	27,65	5,825
9. „	214		5,825		5,825
			Summe 27,65	Summe 27,65	

F. 4 Min. in 1:1000 NO ₂ H.				F. 5 Min. in 1:1000 NO ₂ H.	
Datum	Dauer der Kultur in Stunden	In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete		In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete	
		Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 25 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
1. VII.	22	1,9	1,9	1,8	1,8
2. „	46	2,8	0,9	2,4	0,6
3. „	70	4,0	1,2	3,2	0,8
4. „	94	5,0	0,5	3,6	0,4
5. „	118		0,5	4,8	1,2
6. „	142	8,0	0,75	7,2	1,2
7. „	166		0,75		1,2
8. „	190	8,0	0,75	7,8	0,3
9. „	214		0,75		0,3
		214	8,0		7,8

F. 12 Min. in 1:5000 NO₂H.

F. 13 Min. in 1:5000 NO₂H.

Datum	Dauer der Kultur in Stunden	In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete		In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete	
		Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
1. VII.	22	27	2,7	2,5	2,5
2. „	46	3,0	0,3	2,6	0,1
3. „	70	3,4	0,4	3,0	0,4
4. „	94	3,4	0,0	3,0	0,0
5. „	118	3,6	0,2	3,2	0,2
6. „	142	5,0	0,7	4,8	0,8
7. „	166		0,7		0,8
8. „	190	6,2	0,6	6,2	0,7
9. „	214		0,6		0,7
	214	6,2	6,2	6,2	6,2

F. 35 Min. in 1:10000 NO₂H.

F. 36 Min. in 1:10000 NO₂H.

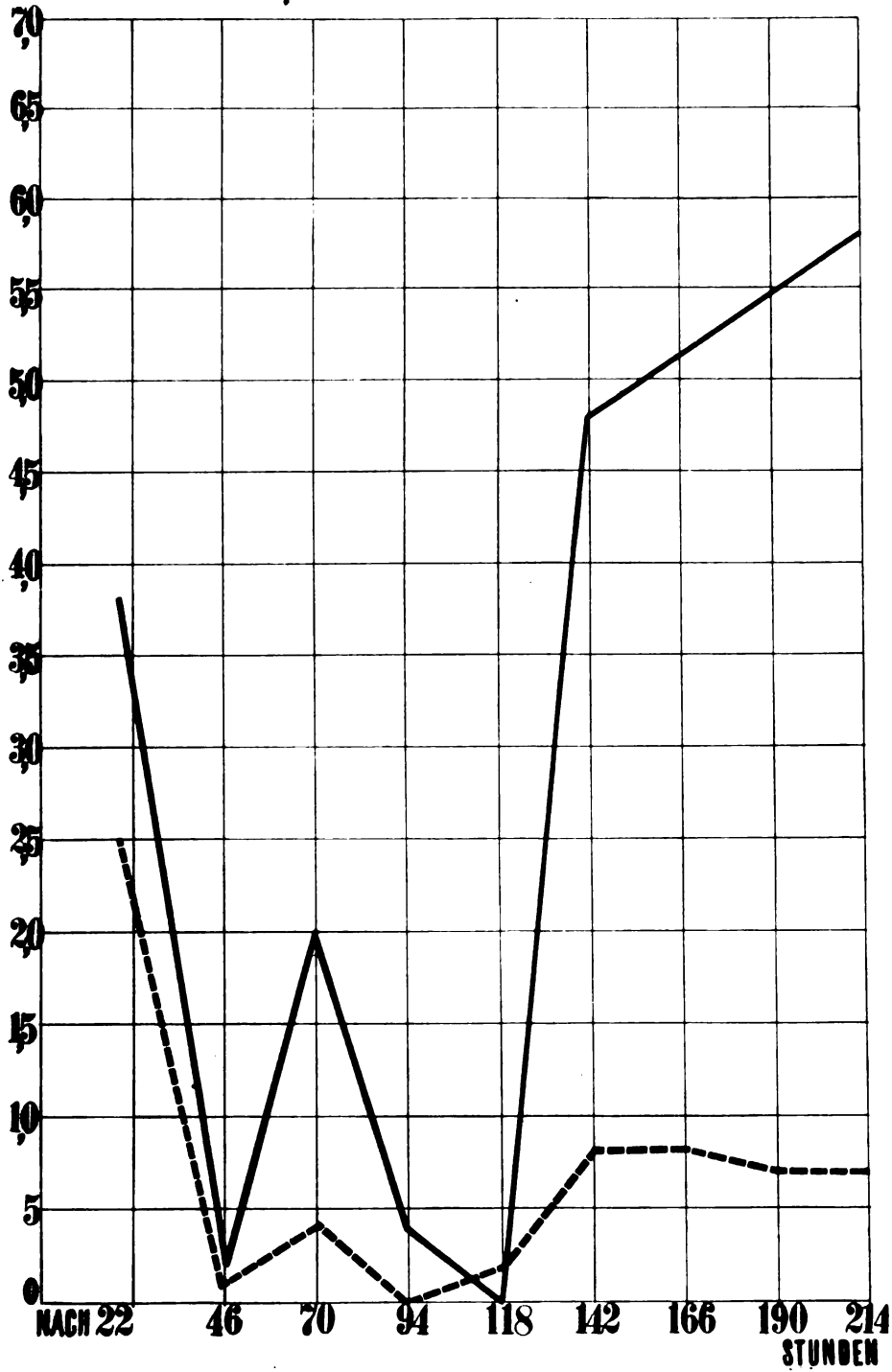
Datum	Dauer der Kultur in Stunden	In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete		In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete	
		Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
1. VII.	22	2,2	2,2	2,1	2,1
2. „	46	3,6	1,4	3,4	1,3
3. „	70	5,0	1,4	4,8	1,4
4. „	94	5,0	0,0	4,8	0,0
5. „	118	6,4	1,4	5,2	0,4
6. „	142	6,8	0,2	15,6	5,2
7. „	166		0,2		5,2
8. „	190	7,6	0,4	15,6	0,0
9. „	214		0,4		0,0
	214	7,6	7,6	15,6	15,6

F. 38 Min. in 1:10000 NO₂H.F. 39 Min. in 1:10000 NO₂H.

Datum	Dauer der Kultur in Stunden	In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete		In 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon gebildete	
		Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge NO ₂ H mg	NO ₂ H-Menge für je 24 Stdn. (Differenzen von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
1. VII.	22	2,0	2,0	1,9	1,9
2. „	46	3,0	1,0	1,9	0,0
3. „	70	3,8	0,8	3,2	1,3
4. „	94	4,0	0,2	3,6	0,4
5. „	118	5,2	1,2	4,4	0,8
6. „	142	7,6	1,2	4,6	0,1
7. „	166		1,2		0,1
8. „	190	7,6	0,0	4,6	0,0
9. „	214		0,0		0,0
	214	7,6	7,6	4,6	4,6

Es dürfte genügen, von diesen Zahlenreihen einige als Beispiele in Kurven wiederzugeben, da alle den gleichen gesetzmäßigen Gang zeigen.

F 35 Min. in 1:10000 NO₂H



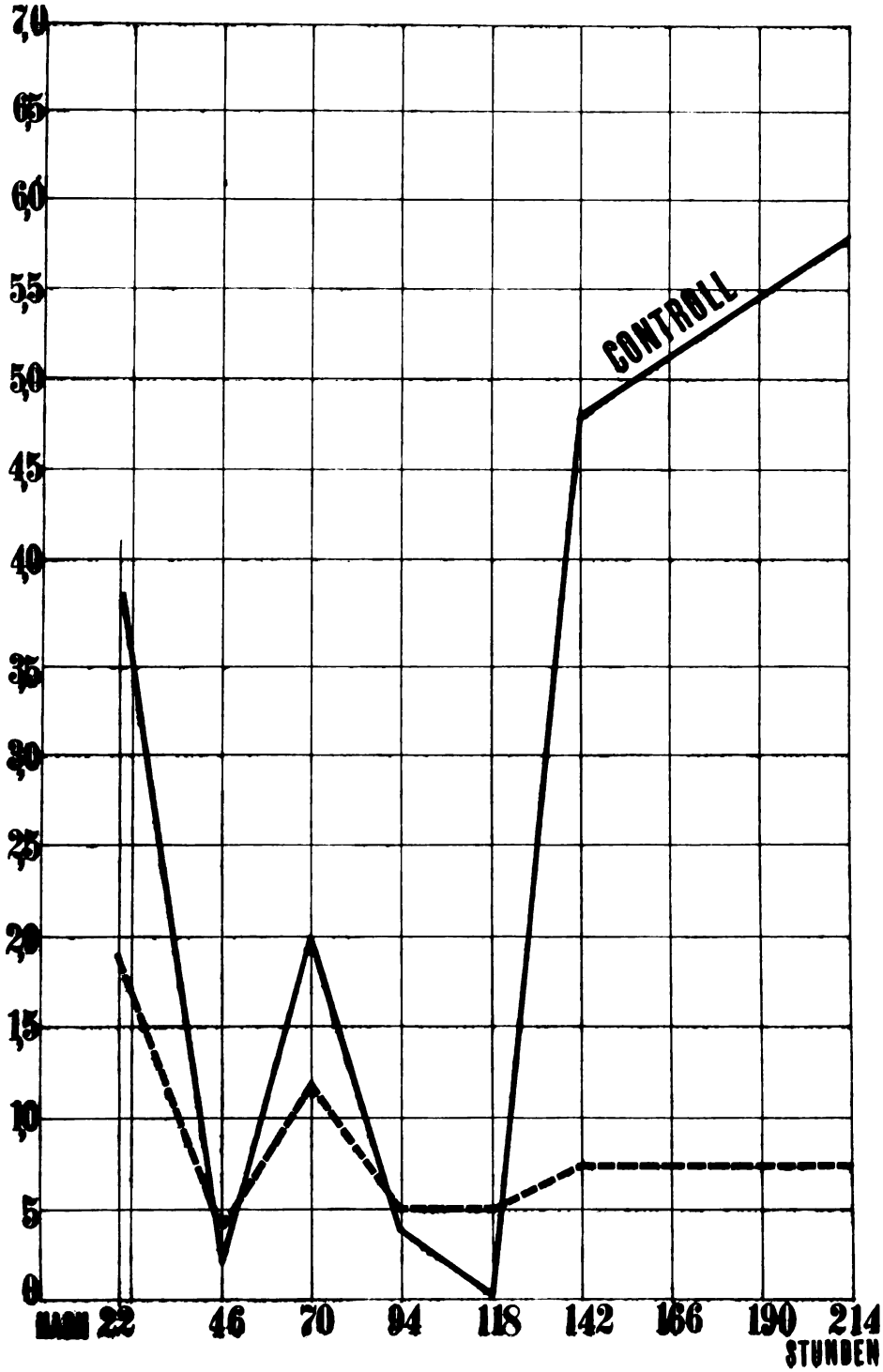
Archiv für Hygiene. Bd. LXXVI.

5

F 13 Min. in 1:5000 NO₂H



F 4 Min. in 1:1000 NO₂H



Diese Zahlen und Kurven, welche nicht die Gesamtmenge der nach 24, 48 usw. Stunden in Form von Nitrit in der Kultur enthaltenen Salpetrigsäuremengen wiedergeben, sondern die täglichen Differenzen dieser Zahlen, also die in je 24 Stunden in Form von Nitrit gebildeten Salpetrigsäuremengen, lassen im Vergleich mit den gleichen Zahlen der Kontrolle (nicht beeinflusste Dejektions-Choleravibrionen) folgende durchgehends bestätigte Gesetzmäßigkeiten erkennen: Bei der Kontrolle wird am ersten Tag eine beträchtliche Nitritmenge (= 3,8 mg NO_2H) gebildet. Diese Nitritquantität schädigt die Vibrionen in bestimmtem Grade, und infolge davon bilden dieselben in den zweiten 24 Stunden nur 0,2 mg NO_2H . Nun tritt bei fortgesetzter Schädigung der Nitritbildung und Verringerung der Differenz von Tag zu Tag doch auch eine Gewöhnung der Vibrionen an die Nitritwirkung ein, was sich darin ausspricht, daß auf einen Tag mit sehr geringer Nitritbildung wieder ein Tag mit etwas höherer Nitritmenge folgt, derart aber, daß die täglich gebildete Nitritmenge zwar zunächst bis zum fünften Tag fortgesetzt abnimmt und ein Minimum oder Null erreicht, worauf aber ein unerklärlicher, sehr steiler Anstieg erfolgt, indem alles Nitrat innerhalb 4 Tagen zu Nitrit reduziert wird. Am dritten Tag wird wieder mehr salpetrige Säure als am zweiten, nämlich 2 mg gebildet. Der Nitratgehalt der Kultur bleibt alsdann bis zum fünften Tag der gleiche, entsprechend 6,4 mg NO_2H , da am vierten Tag nur 0,4 und am fünften überhaupt keine salpetrige Säure gebildet wird. Dabei erfolgt vollständige Anpassung der Vibrionen an den 3 Tage fast gleichbleibenden Nitritgehalt der Kultur. Nach dieser Gewöhnung der Vibrionen an das Nitrit scheint dasselbe geradezu als Reiz zu höherer Leistung zu wirken, da am sechsten, siebenten, achten und neunten Tag je 4 bis 6 mg salpetrige Säure gebildet werden, also täglich noch mehr als am ersten Tag, bis am neunten Tag alles Nitrat zu Nitrit reduziert ist.

Die Salpetrigsäure-Produktionskurve der durch die verschiedenen Salpetrigsäurelösungen geschädigten Choleravibrionen zeigt für alle Konzentrationen durchgehends denselben Verlauf,

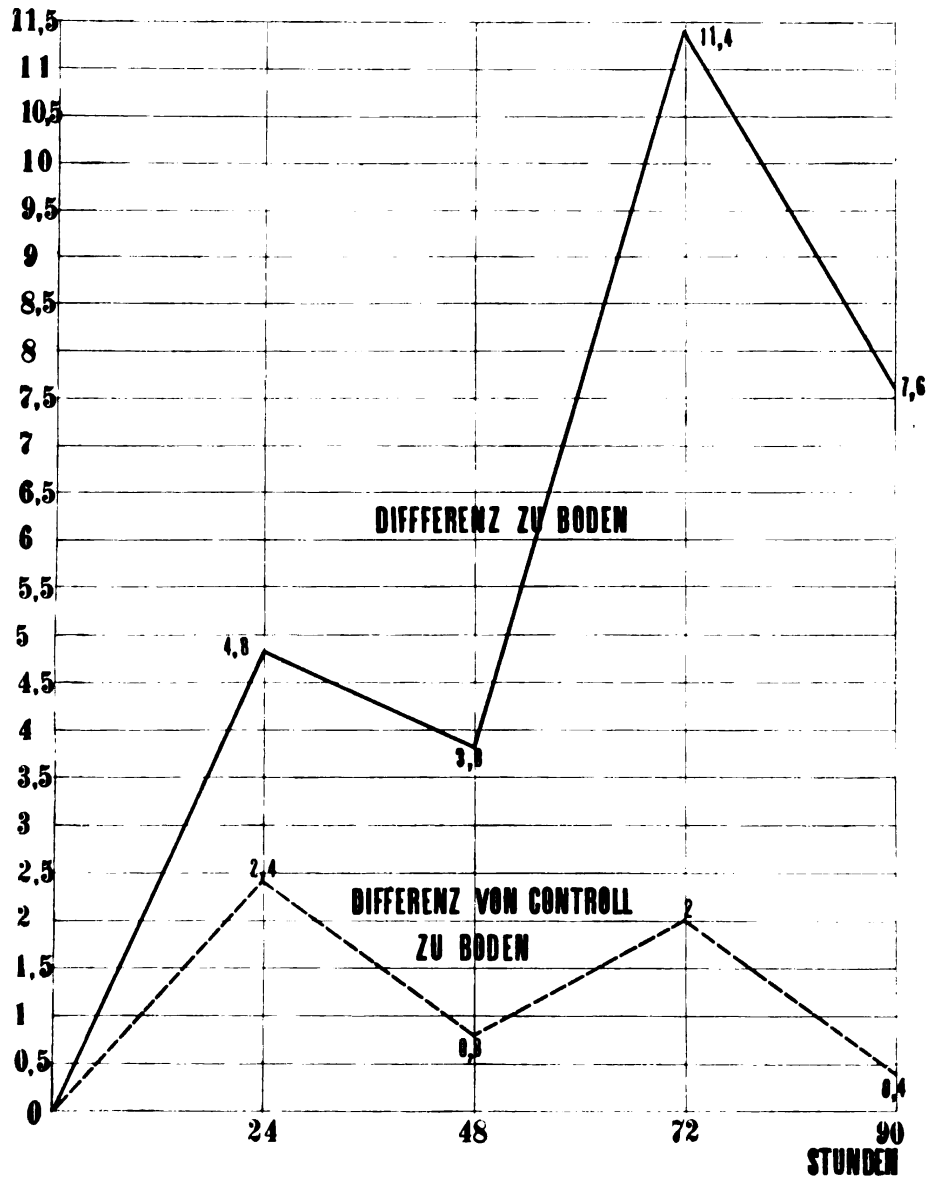
die gleiche Gesetzmäßigkeit. Sie beginnt wie die Kurve der Kontrolle mit auf- und absteigenden Bewegungen, die aber eine viel geringere Amplitude haben, in welcher sich eine tiefgehende Schädigung der Zelle ausspricht. Nach einer Höchstleistung von nur 1,9 mg NO_2H am ersten Tag vermögen z. B. die 39 Minuten lang durch die Salpetrigsäurelösung 1:10 000 betroffenen Vibrionen am zweiten Tag keine Spur Nitrit zu bilden; alsdann folgt am dritten Tag die Produktion von 1,3 mg NO_2H , um am vierten wieder auf 0,4 mg zu sinken. Noch einmal erhebt sich am fünften Tag die Nitritbildung um ein geringes (0,8 mg), worauf nach der minimalen Leistung von je 0,1 mg am 6. und 7. Tag der definitive Zusammenbruch am achten Tag erfolgt, da von hier ab in der Kultur überhaupt kein Nitrit mehr gebildet wird.

Während also in der Kontrolle, die ebenfalls aus durch salpetrige Säure im Menschendarm betroffenen Choleravibrionen besteht, die aber durch fortgesetzte Kultur und häufige Übertragung das geschädigte Nitritbildungsvermögen teilweise wiedergewonnen haben, während diese Vibrionen nach mehrfachen Schwankungen der täglichen Nitritbildung schließlich doch noch, wenn auch in schleppendem Gang, die Gesamtmenge des Nitrates zu 27,65 mg salpetriger Säure zu reduzieren vermögen, bringen es die durch die verschiedenen Salpetrigsäurelösungen geschädigten Vibrionen in 9 Tagen nur zu einer Gesamtproduktion von 4,6, 6,2, 7,6, 7,8, 8,0 und 15,6 mg salpetriger Säure.

Von großer Bedeutung sind auch die folgenden Zahlen und Kurven für jene Cholerabazillen welche 16 Minuten lang in einer Salpetrigsäurelösung 1:20 000 geschädigt wurden, dann aber 3 Tage auf disponiertem Boden gewachsen waren. Man ersieht daraus, daß bei den 3 Tage auf disponiertem Boden (der Fallmeyerstraße) gewachsenen Choleravibrionen die Schädigung durch das von ihnen in der Kultur (10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon) gebildete Nitrit viel geringer ist als bei den Dejektions-Cholerabazillen oder bei den durch verschiedene Salpetrigsäurekonzentrationen geschädigten Vibrionen, eine sehr wichtige Tatsache, die außer anderem die größere Giftigkeit der Boden-Choleravibrionen erklärt.

5**

70 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.



Datum	Dauer der Kultur in Stunden	Kontrolle.		Bodencholera Bazillen.	
		Die 16 Minuten in Salpetrigsäure-Lösung 1:20 000 geschädigten Vibrionen bildeten in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon		Dieselben geschädigten Vibrionen bildeten nach 3 tägigem Wachstum auf Boden in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon	
		Gesamtmenge salpetrige Säure mg	Salpetrigsäure-Menge für je 24 St. (Differenz. von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg	Gesamtmenge salpetrige Säure mg	Salpetrigsäure-Menge für je 24 St. (Differenz. von je 2 sich folgenden Zahlen der vor. Rubrik) mg
11. VII.	24	2,4	2,4	4,8	4,8
12. „	48	3,2	0,8	8,6	3,8
13. „	72	5,2	2,0	20,0	11,4
14. „	90	5,6	0,4	27,65	17,65
			5,6		27,65

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die geschädigten Cholera-vibrionen im Boden eine viel größere Widerstandsfähigkeit gegen das von ihnen gebildete Nitrit erlangt haben; sie werden viel weniger durch das in der Kultur gebildete Nitrit in ihrem Nitrit-bildungsvermögen beeinträchtigt als wie die gleichen in Salpetrig-säurelösung 1:20 000 geschädigten Vibrionen, welche nicht auf Boden kamen. Die letzteren werden schon durch die am ersten Kulturtag gebildeten 2,4 mg NO₂H so geschädigt, daß sie am zweiten Tag nur 0,8 mg NO₂H in Form von Nitrit bilden, also 1,6 mg weniger als am ersten Tag. Die Boden-Cholera-vibrionen dagegen erzeugen am ersten Tag 4,8 mg und am zweiten doch auch 3,8 mg, also nur 1 mg weniger als am ersten Tag.

Weitere Untersuchungen über die Schädigung des Gift- i. e. Nitrit-Bildungsvermögens der Cholera-vibrionen durch die von ihnen selbst gebildeten Nitritmengen.

Im menschlichen Darm kommt außer der Schädigung des Nitritbildungsvermögens der Cholera-vibrionen durch freie salpetrige Säure auch noch die Wirkung von Nitriten in Betracht, wie wir dies soeben für die Kultur in Nitratbouillon besprochen haben. Es ist daher die für die Nosologie und Epidemiologie gleich wichtige Frage noch weiter zu erörtern, ob die Nitrite in den Mengen,

72 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

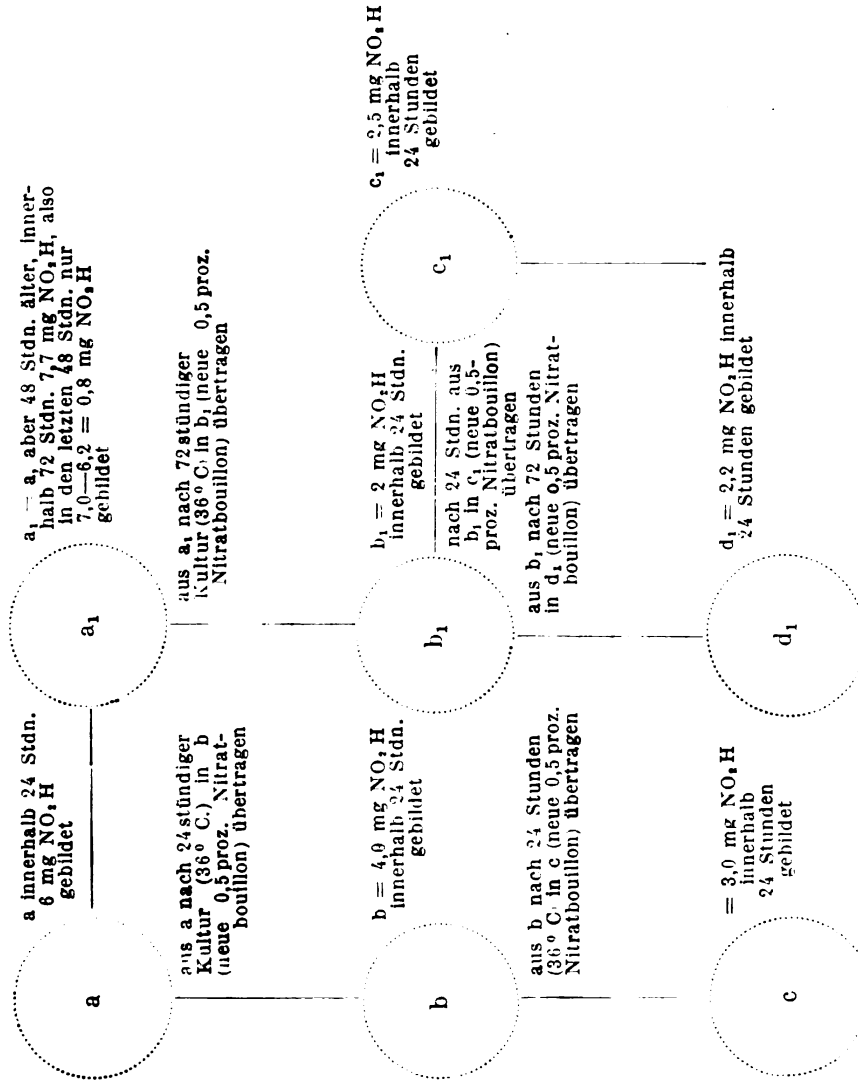
in welchen sie von den Choleravibrionen gebildet werden, eine Herabsetzung des Nitritbildungsvermögens bewirken können.

Es ist naheliegend, zunächst noch eingehender zu untersuchen, ob die in der Nitratbouillon gebildeten Mengen von Nitrit eine Verminderung der weiteren Nitritproduktion zur Folge haben.

Das folgende, mit ähnlichem Resultat öfters wiederholte Experiment beantwortet diese Frage entschieden mit »Ja!« Choleravibrionen, welche 6 Tage in von 0,5 proz. Nitratbouillon kapillar durchtränktem, verunreinigtem Münchener Kiesboden (aus der Fallmeyerstraße) waren, wurden in 0,5 proz. Natriumnitratbouillon (a) übertragen und bildeten nun innerhalb 24 Stunden pro 10 ccm Nitratbouillon 6,2 mg NO_2H in Form von Nitrit, während sie vor dem Bodenaufenthalt nur 2,4 mg unter ganz gleichen Bedingungen produziert hatten. Aus a wurde nun einerseits in b (neue 0,5 proz. Nitratbouillon) nach Ablauf der ersten 24 Stunden und andererseits (aus $a_1 = a$ aber 48 Stunden älter) in b_1 (neue 0,5 proz. Nitratbouillon) nach 72 stündiger Kultur bei 36°C überimpft. In b wurden innerhalb 24 Stunden 4,0 mg NO_2H (in Form von Nitrit), in b_1 aber nur 2,0 mg NO_2H gebildet, weil die Vibrionen in a_1 48 Stunden unter der Einwirkung von mehr als 6,2 mg NO_2H in Form von Nitrit in ihrem Nitritbildungsvermögen stärker geschädigt wurden als die Vibrionen in a, welche nur 24 Stunden der Einwirkung von 0 bis 4,0 mg NO_2H in Nitritform ausgesetzt waren. Diesen Anfang und den weiteren Verlauf des Versuches zeigt die nebenstehende Skizze auf Seite 73.

Da der Grad der Beeinträchtigung des Nitritbildungsvermögens in diesem und in anderen ähnlichen Versuchen proportional der Menge und der Einwirkungsdauer des gebildeten Nitrites ist, so darf man schließen, daß im wesentlichen wenigstens nur dieses und nicht etwa andere Stoffwechselprodukte die Ursache dieser Beeinträchtigung sind.

Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung wird weiterhin durch den folgenden Versuch bestätigt, bei welchem Dejektions-Choleravibrionen der Einwirkung einer Natriumnitritlösung 3:1000 verschieden lange Zeit hindurch ausgesetzt wurden.



74 Die Beeinträchtigung des Gift- i. e. Nitritbildungsvermögens etc.

Es bildeten in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon freie NO_2H in Milligramm:

Dauer der Kultur bei 36° C in Stunden	Einwirkungs-dauer der Natriumnitrit-lösung 3:1000 auf die Cholera-vibrionen	In 10 ccm Nitratbouillon gebildete Menge freier NO_2H in mg	Dauer der Kultur bei 36° C in Stunden	Einwirkungs-dauer der Natriumnitrit-lösung 3:1000 auf die Cholera-vibrionen	In 10 ccm Nitratbouillon gebildete Menge freier NO_2H in mg
24	15 Stunden	3,5	72	15 Stunden	14,0
24	24 „	2,5	72	24 „	3,2
24	48 „	2,4	72	48 „	3,0
24	72 „	2,4	72	72 „	—
48	15 „	8,4	96	15 „	14,0
48	24 „	3,0	96	24 „	3,2
48	48 „	2,6	96	48 „	5,2
48	72 „	2,4	96	72 „	—
			120	15 „	20,0
			120	24 „	8,0

Auch in diesem Versuch war die Menge der von den Vibrionen in 10 ccm 0,5 proz. Natriumnitratbouillon gebildeten salpetrigen Säure um so geringer, je länger die drei pro mille Natriumnitritlösung auf die Cholera-vibrionen eingewirkt hatte. (Nur bei 48 stündiger Einwirkung ergab sich, aus vorläufig nicht erklärter Ursache, eine etwas zu große Salpetrigsäuremenge.)

Auch im Menschendarm werden somit nicht nur die freie salpetrige Säure, sondern auch die Nitrite schädigend auf das Nitritbildungsvermögen der Cholera-vibrionen einwirken, zumal bei der Cholera tatsächlich eine mehrtägige Einwirkungs-dauer wie im obigen Versuch in Betracht kommt, was namentlich *Stühler n*¹⁾ konstatierte, der bis ins Typhoidstadium hinein Tag für Tag Nitrit im Erbrochenen und in den Cholera-stühlen nachgewiesen hat.

Wir heben nochmals hervor, daß im Cholera-darm außer der freien salpetrigen Säure und der Nitrite noch Skatol, Indol, Kalkseifen usw. abschwächend auf die Cholera-vibrionen wirken. Die

1) Über die Bedeutung der Nitrite bei der Cholera indica. Mediz. Klinik 1909, Nr. 50.

Disposition des Bodens und die Erhöhung des Nitritbildungsvermögens der Choleravibrionen auf demselben kommt durch den kapillaren Bodenwasserstrom in trockenen Zeitperioden zustande. Durch denselben werden die in der Tiefe des verunreinigten Bodens bei der niedrigen Bodentemperatur konservierten NuC-haltigen organischen Stoffe an die Bodenoberfläche geführt. In den Poren derselben kommt dadurch eine Nährlösung zustande, welche innerhalb eines oder einiger weniger Tage im ganzen Stadt- oder Ortsgebiet eine solche Konzentration erhält, daß sich die Choleravibrionen darin üppig zu vermehren vermögen, was den explosionsartigen Ausbruch der Epidemie zur Folge haben muß, weil die Vibrionen von jenen Bodenstellen, auf welche sie von Kranken oder Bazillenträgern direkt mit den Stühlen deponiert wurden, durch die Schuhe der Passanten rasch in der ganzen Stadt oder Ortschaft verbreitet werden. Die Übertragung vom Boden auf Nahrungsmittel erfolgt durch die Hand des Menschen (Dienstboten usw., welche Schuhe und Kleider reinigen und auch in der Küche arbeiten), sowie durch Fliegen usw. Die Gesetzmäßigkeit des ganzen Vorganges ist durch die genialen Forschungen Pettenkofer's über die Entstehung der Epidemien in Zeiten sinkenden Grundwassers, sowie unter anderem auch durch die höchst merkwürdige Tatsache erwiesen, daß z. B. in München der erste Cholera Todesfall im Jahre 1873 in vierzehn Straßen genau am gleichen oder nächsten Tag eintrat, wie bei der Epidemie von 1854, also vor neunzehn Jahren!

Die ersten Cholera Todesfälle kamen vor:

Straße	1854	1873	Straße	1854	1873
1. in der Türkenstr.	6. Aug.	7. Aug.	8. in d. Luitpoldstr.	13. Aug.	13. Aug.
2. Maximiliansplatz	6. „	7. „	9. Gabelsbergerstr.	13. „	12. „
3. in d. Schützenstr.	7. „	8. „	10. a. Türkengraben	18. „	18. „
4. in der Sonnenstr.	8. „	7. „	11. in der Kanalstr.	19. „	18. „
5. am Karlsplatz	9. „	9. „	12. i. Adelgundenstr.	20. „	20. „
6. in Talkirchnerstr.	11. „	12. „	13. am Platzl	20. „	19. „
7. am Rindermarkt	12. „	13. „	14. i. Bogenhauserstr.	23. „	22. „

Bei 31 Straßen ereignete sich der erste Cholera-todesfall im Jahre 1873 nur um zwei oder drei Tage früher oder später als im Jahre 1854.¹⁾

Das ist ein überzeugender und imponierender Beweis für die Richtigkeit der Tatsache, daß bei den in den Cholera-jahren 1854 und 1873 herrschenden, in bezug auf Trockenheit geringe Luftfeuchtigkeit und Hitze fast gleichen meteorologischen Bedingungen die Disposition der Bodenoberfläche für die Vermehrung der Cholera-vibrionen und der Ausbruch der Cholera bei dem gleichen Boden der einzelnen Straßen in beiden Jahren fast genau am gleichen Tag zustande kam, also wie dies die Theorie verlangt.

Wer zweifelt angesichts solcher Tatsachen noch an der integrierenden Bedeutung des Bodens für die Entstehung von Cholera-epidemien ?!

Vermag die Kochsche Lehre diese große Tatsache zu erklären ?
Ihr bleibt nur die Zuflucht zum Zufall übrig.

¹⁾ Der erste Cholerafall in München wurde im Jahre 1854 am 23. Juli, im Jahre 1873 dagegen schon am 25. Juni beobachtet; aber erst nach dem zweiten Fall am 16. Juli brach die Epidemie aus, weil nun erst die Bodendisposition komplett war.

Untersuchungen über den diagnostischen Wert des bakteriziden Reagenzglasversuches bei Typhus.

Von
Kreisassistentenarzt Dr. **Marmann.**

(Aus dem Kgl. Medizinal-Untersuchungsamt Koblenz. Vorsteher: Kreis-
arzt Dr. Hilgermann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 22. März 1912.)

Die bakteriologische Diagnose des Typhus geschieht heute, abgesehen von der Züchtung der Bazillen aus dem Blut durch den Nachweis spezifischer Agglutinine, mittels der Gruber-Widalschen Reaktion. Diese Untersuchungsmethode liefert in der weit- aus überwiegenden Mehrzahl der Fälle ein promptes und sicheres Resultat. Immerhin gibt es aber vereinzelte Typhusfälle, in denen die Widalsche Reaktion erst in späteren Erkrankungstagen positiv wird oder ganz versagt, und andererseits wird zuweilen, wenn auch vereinzelt, positive Widalsche Reaktion bei nicht-typhösen Erkrankungen beobachtet, wie z. B. bei Ikterus, Sepsis, Miliartuberkulose.

Der gelegentliche Nachweis von Typhusbazillen in den Ausscheidungen kommt für diagnostische Zwecke kaum in Betracht. Die Sicherung der Diagnose durch Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute ist zwar in über 90% der Fälle möglich; doch genügen hierzu nicht die winzigen Blutmengen, mit denen sich in der Regel die bakteriologischen Untersuchungsanstalten be-

gnügen müssen; von dem hiesigen Untersuchungsamt werden den Ärzten in Fällen, in denen der Widal negativ ist und der Verdacht auf Typhus fortbesteht, Galleröhrchen zur eventuellen Blutentnahme am Krankenbette zur Verfügung gestellt; doch wird hiervon im allgemeinen nur selten Gebrauch gemacht.

So ist man denn im bakteriologischen Laboratorium beim Nachweis des Typhus in erster Linie auf die Widalsche Reaktion angewiesen. Wenn nun auch nach den Erfahrungen, welche im hiesigen Untersuchungsamt mit der Widalschen Reaktion, insbesondere bei Benutzung der später zu besprechenden Mischbouillon, gewonnen wurden, die Fälle, in denen diese Reaktion einmal versagt, außerordentlich selten sind, so ist doch im Interesse einer prompten bakteriologischen Feststellung und dementsprechend möglichst schnellen Bekämpfung dieser Seuche jeder Versuch zu begrüßen, auch in diesen seltenen Fällen ein diagnostisches Ersatzmittel zu schaffen. Es lag nahe, hierzu die außer den Agglutininen im Organismus des Typhuskranken gebildeten Immunkörper zu benutzen. Pfeiffer und Kolle¹⁾ konnten nachweisen, daß das Blutserum Typhuskranker, welches gleichzeitig mit Typhusbazillen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert wurde, einen Zerfall dieser Bazillen bewirkt. Dieses Phänomen der Bakteriolyse läßt sich auch außerhalb des tierischen Organismus »in vitro« beobachten. Systematische Versuche, die Bakteriolyse mittels des bakteriziden Reagenzglasversuches zu diagnostischen Zwecken zu verwerten, haben zuerst Stern und Korte²⁾ angestellt. Dieselben stellten sich eine Reihe Verdünnungen des zu prüfenden, vorher inaktivierten Typhusserums her und fügten zu jedem Röhrchen 0,5 ccm 5000fach verdünnter Typhusbouillon und als Komplement 0,5 ccm etwa 10fach verdünnten frischen Kaninchenserums. Nach drei- bis vierstündigem Aufenthalt der Röhrchen im Brutschrank wurde der Inhalt derselben zu Platten gegossen. Die bei 37° bebrüteten Platten wiesen bereits nach 12 Stunden eine deutliche Keimverminderung auf. Oft waren nur wenige Kolonien auf den Platten vorhanden, wäh-

1) Zeitschrift für Hygiene 1896 Bd. 21.

2) Berliner klin. Wochenschrift 1904 S. 213.

rend die Kontrollproben, welche kein Typhusserum enthielten, eine unendliche Anzahl Kolonien aufwiesen. Bei der auf diese Art und Weise vorgenommenen Untersuchung von 55 Serumproben zeigten die Sera fiebernder oder kürzlich entfiebrter Typhuskranken sämtlich in mehr als 1000facher Verdünnung deutliche bakterizide Wirkung für Typhusbazillen, während die Sera von Menschen, welche, soweit festzustellen, niemals Typhus durchgemacht hatten, keine oder nur ganz unbedeutende Wirkung erkennen ließen. In zwei Typhusfällen, in denen die Widalsche Reaktion negativ bzw. nicht beweisend ausgefallen war, ergab der bakterizide Reagenzglasversuch ein positives Resultat.

Die von Stern und Korte begonnenen Versuche wurden von Korte und Steinberg¹⁾ fortgesetzt; dieselben berichteten über 32 weitere, mit dem Blutserum Typhuskranker angestellte Reagenzglasversuche, und konnten ebenfalls in zwei Fällen, in denen die Agglutination niedrige, nicht unbedingt beweisende Werte zeigte, eine bakterizide Einwirkung der betreffenden Sera auf Typhusbazillen nachweisen.

Weniger günstige Resultate erhielten mit dem bakteriziden Reagenzglasversuch Laubenhaimer²⁾ und Ulrichs³⁾. Ersterer fand bei der Untersuchung von 12 Typhusfällen nur 8 mal bakterizide Wirkung, während die Agglutination 10 mal ein positives Resultat ergab; bei den 19 Blutproben, welche Ulrichs untersuchte, war die Widalsche Reaktion 16 mal, der bakterizide Reagenzglasversuch dagegen nur 12 mal positiv. Töpfer und Jaffé⁴⁾ beobachteten zwar zuweilen auch ein Versagen des bakteriziden Versuchs, indem von 16 sicheren Typhusfällen drei keinerlei spezifische bakteriziden Wirkungen des Blutserums erkennen ließen; ihre Versuche ergaben aber andererseits einmal bei zweifelhaftem Widal positiven Ausfall der bakteriziden Reaktion. Auch Briön und Kayser⁵⁾ gelang es, in 2 Typhus-

1) Deutsches Archiv für Klin. Medizin 1905 Bd. 82 S. 231.

2) Zeitschrift für Klin.-Medizin 1905 Bd. 56 S. 170.

3) Hygienische Rundschau 1906 Bd. 16 S. 685.

4) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1906 Bd. 52 S. 393.

5) Deutsches Archiv für Klin.-Medizin 1906 Bd. 85 S. 315.

fällen, in denen die gewöhnlichen Untersuchungsmethoden (Agglutination, Blutzüchtung) versagten, durch den positiven Ausfall des bakteriziden Versuchs die Diagnose Typhus zu sichern.

Bei der Bedeutung, welche jeglicher Verbesserung der bakteriologischen Typhusdiagnose zukommt, dürfte die an der Hand eines umfangreichen Materials vorgenommene Nachprüfung der Frage, inwieweit bei Typhus der bakterizide Reagenzglasversuch als diagnostisches Hilfsmittel in Betracht kommt, ein Interesse beanspruchen. Da hierbei die dem hiesigen Untersuchungsamt eingesandten Blutproben benutzt wurden, war eine genaue Würdigung der betreffenden Fälle in klinischer Hinsicht nicht möglich; jedoch dürfte im allgemeinen kein Grund vorliegen, bei denjenigen Fällen, in denen die Widalsche Reaktion ein positives Resultat gab, an der Diagnose Typhus zu zweifeln; auch unterrichtete ich mich durch Korrespondenz mit den einsendenden Ärzten sowie durch Studium der von den Kreisärzten gegebenen Berichte über den klinischen Verlauf und beobachtete eine Reihe von Fällen selbst am Krankenbett; nur in einigen wenigen Fällen mit positivem Widal, welche später besonders besprochen werden sollen, sprach der klinische Verlauf nach den Mitteilungen der einsendenden Ärzte nicht für Typhus.

Bei der Anstellung der Versuche wurde im allgemeinen die von Stern und Korte angegebene Technik benutzt. Im einzelnen ist hierüber folgendes zu bemerken:

I. Spezifisches Serum.

Die Blutproben wurden am Tage des Eingangs mit physiologischer Kochsalzlösung 100 fach verdünnt, eine halbe Stunde bei 55° im Wasserbade inaktiviert und dann im Eisschrank aufbewahrt. Die Anzahl der bei dem eigentlichen Versuch verwandten Serumverdünnungen durfte bei dem umfangreichen Betrieb des Untersuchungsamtes naturgemäß eine gewisse Grenze nicht überschreiten; die Ansetzung von einem Dutzend und mehr Verdünnungen, wie solche zum Teil von den vorhin erwähnten Autoren verwendet wurden, hätte allzu große Opfer an Zeit, Gefäßen

und Nährmaterial erfordert. Bei den Versuchen, die Zahl der Verdünnungen zu verringern, ließ ich mich von folgenden Gesichtspunkten leiten:

Einerseits war eine untere Grenze durch die Tatsache gegeben, daß ein Zuviel von Immunsorum die Wirkung im bakteriziden Versuch aufheben kann; diese von Neißer und Wechsberg¹⁾ beobachtete und auf Komplementablenkung bezogene Erscheinung tritt noch in verhältnismäßig hohen Verdünnungen auf; so konnte z. B. Ulrichs in einer Verdünnung von 1:1600 stärkere bakterizide Wirkung erkennen als in einer Verdünnung von 1:800. Tab. IV zeigt, daß dieses Phänomen zuweilen in noch höheren Verdünnungen vorkommen kann. Ferner war zu berücksichtigen, daß in stärkeren Konzentrationen zuweilen auch das Blutserum von Nichttyphuskranken bakterizide Wirkungen enthalten kann. Hahn²⁾ untersuchte das Blutserum von 27 Gesunden und 73 an einer anderen Krankheit als Typhus leidenden Patienten auf bakterizide Wirkung gegen Typhusbazillen. Bei ersteren fand er 4 mal, bei letzteren 19 mal einen bakteriziden Titer von über 1:100. In einzelnen Fällen lag derselbe sogar zwischen 1:1000 und 1:10 000. Allerdings konnten Laubenhaimer, welcher das Serum von 4 Nichttyphuskranken, und Töpfer und Jaffé, welche das Serum von 12 Gesunden und 7 an einer andern Krankheit Leidenden untersuchten, eine bakterizide Wirkung dieser Sera gegen Typhusbazillen nicht erkennen; auch ich fand bei der Untersuchung von 40 Sera, bei denen der negative Ausfall der Agglutination von den einsendenden Ärzten nicht beanstandet wurde, keine nennenswerte bakterizide Beeinflussung von Typhusbazillen. Immerhin wird man positive Befunde bei stärkeren Konzentrationen als 1:1000 mit einer gewissen Vorsicht beurteilen müssen.

Ich begann daher meine Versuchsreihe in der Regel mit einer Verdünnung von 1:500 oder 1:1000, zuweilen von 1:2000. Von dem ersten 2 ccm enthaltenden Röhrchen wurde 1 ccm in

1) Münchner med. Wochenschrift 1901 S. 698.

2) Deutsches Archiv für klin. Medizin 1905 Bd. 82 S. 294.

ein zweites, bereits 1 ccm physiologische Kochsalzlösung enthaltendes Röhrchen gebracht und gehörig durchgemischt, von diesem 1 ccm in ein drittes, welches ebenfalls bereits 1 ccm Kochsalzlösung enthielt usw., so daß eine Versuchsreihe von 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:4000 usw. entstand. Es versteht sich, daß sowohl die mit Wattepfropf versehenen Reagenzröhrchen und die Pipetten als auch die benutzte Kochsalzlösung steril waren, und daß auch sonst unter sterilen Kautelen gearbeitet wurde.

Über eine Verdünnung von 1:32 000 ging ich nur selten hinaus, denn ich machte bei zahlreichen Versuchen die Beobachtung, daß die stärksten bakteriziden Wirkungen bei Verdünnungen unter 1:20 000 zu sehen waren. Diese Beobachtung deckt sich mit den Befunden der meisten eingangs erwähnten Autoren. Auch genügen diese Verdünnungen, um nennenswerte bakterizide Wirkungen nichttyphöser Sera auszuschalten. In jedem einzelnen Falle den bakteriziden Titer auszutitrieren, erschien mir nicht erforderlich. Wir begnügen uns ja auch bei der Agglutination in der Regel mit wenigen Verdünnungen und nehmen eine Austitrierung nur in wenigen Fällen vor. Es genügt m. E. die Ansetzung derjenigen Verdünnungen, in denen erfahrungsgemäß die bakteriziden Wirkungen deutlich und spezifisch sind. So kam ich in der Regel mit 5—6 Röhrchen aus, wodurch es mir möglich war, stets mehrere Sera gleichzeitig zu untersuchen. Indem ich neben positiven auch negative Sera unter denselben Bedingungen untersuchte, erhielt ich hierdurch sehr wertvolle Vergleichsobjekte, deren Bedeutung noch später erörtert werden soll.

2. Typhusbakterien.

Als Aussaat benutzte ich in der Regel 0,5 ccm einer 5000 fach mit steriler Bouillon verdünnten 24 stündiger Typhusbouillonkultur. Es wurde ein schon seit vielen Jahren im Untersuchungsamt fortgezüchteter, in jeder Hinsicht einwandfreier Laboratoriumsstamm benutzt. Vergleichende Untersuchungen mit anderen Typhusstämmen ergaben, daß diese nicht in demselben Grade von bakteriziden Typhussera beeinflußt wurden.

Tab. I zeigt, daß von demselben Serum unter denselben Bedingungen der eine Stamm abgetötet, der andere aber in keiner Weise beeinflußt wurde. H ü n e¹⁾ fand ebenfalls eine große Verschiedenheit in der Beeinflussung verschiedener Stämme.

Tabelle I.

Serum	Typhus-stamm	Resultat des bakteriziden Versuches			
		1: 900	1: 3600	1: 14 400	1: 57 600
Bei den vier gleichzeitig vorgenommenen Versuchen wurde dasselbe Serum benutzt; es stammte aus der 2. Krankheitswoche	Coblenz	+	+	schwach	0
	A.	+	+	0	0
	Sch.	0	0	0	0
	P.	0	0	0	0
	Derselbe war aus dem Blute des Patienten gezüchtet, von dem das Serum stammte				

+ bedeutet, daß die Platten einen makroskopisch deutlich wahrnehmbaren Unterschied gegenüber der Kontrolle aufwiesen. 0 bedeutet, daß dies nicht der Fall ist.

Bei einem weiteren vergleichenden Versuche wurden die Kolonien ausgezählt:

Serum	Typhus-stamm	Komple-ment-kontrolle	Resultat des bakteriziden Versuches					
			1: 1000	1: 2000	1: 4000	1: 8000	1: 16 000	1: 32 000
Bei den 3 gleichzeitig vorgenommenen Versuchen wurde dasselbe Serum benutzt. Es stammt aus der 4. Krankheitswoche	Koblenz Chr.	60 000	4800	4800	2400	3300	14 100	2100
	B.	90 900	Keinerlei bakterizide Einwirkung					
			26 100	6300	15 300	15 600	5400	

Ebenso ist die Art der Verdünnungsflüssigkeit von einer gewissen Bedeutung, insbesondere Salzgehalt, Nährstoffmenge und Reaktion derselben. Es sei in dieser Beziehung auf die ausführlichen Erörterungen H ü n e s (l. c.) hingewiesen. Mir hat sich gewöhnliche neutrale Nährbouillon als

1) Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt Bd. 26 S. 196.

Verdünnungsflüssigkeit sehr gut bewährt. Dagegen habe ich des öfteren ohne Nachteil ältere oder jüngere Bouillonkulturen sowie stärkere Verdünnungen benutzt. Eine Verschiedenheit der Resultate wurde dabei nicht beobachtet, wie auch aus der Tab. II hervorgeht, welche die unter sonst gleichen Bedingungen vorgenommene Prüfung desselben Serums mit verschiedenen Bouillonverdünnungen wiedergibt. **L a u b e n h e i m e r**, **U l r i c h s** und **H ü n e** benutzten mit guten Resultaten eine Aufschwemmung einer Öse Agarkultur in Bouillon, welche 5000 fach oder 10 000 fach verdünnt wurde.

Tabelle II.

Serum	Verdünnen der Typhusbouillonkultur	Resultat des bakteriziden Versuches				
		1: 900	1: 3600	1: 14 400	1: 57 600	
Bei den 4 gleichzeitig vorgenommenen Versuchen wurde dasselbe Serum benutzt. Es war in der 1. Krankheitswoche entnommen	1: 1000 einer 6stündigen Kultur	+	+	+	schwach +	
	1: 5000 einer 24stündigen Kultur	++	++	+	0	
	1: 10000 einer 24stündigen Kultur	++	++	+	schwach +	
	1: 50000 einer 24stündigen Kultur	++	++	+	0	

3. Komplement.

Als Komplement benutzte ich bei den ersten orientierenden Versuchen frisches **K a n i n c h e n s e r u m**. Das Blut wurde mittels Pravazscher Spritze der Ohrvene entnommen, dann eine Zeitlang zur Abscheidung des Blutkuchens in den Eisschrank gestellt und nach Ablösung des Blutkuchens von der Wand des Gefäßes zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde abpipettiert und mit physiologischer Kochsalzlösung auf das 10fache verdünnt. Von dieser Verdünnung erhielt jedes Röhrchen 0,5 ccm. Bei weiteren Versuchen verwandte ich jedoch auch **M e e r s c h w e i n c h e n s e r u m**. Dasselbe wurde durch Herzpunktion gewonnen, im übrigen wie das Kaninchenkomplement behandelt. Daß der Gehalt der verschiedenen Normalsera an Komplement außerordentlich verschieden ist, dürfte allgemein bekannt sein. Tab. III

Tabelle III.

Serum	Kochsalzkontrolle	Art des Komplements	Komplementkontrolle	Kolomenzahl in den verschied. Verdünnungen					
				1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:1600	1:3200
Typhusserum Nr. 16	180 000	Meerschw. 1:10	83 400	10	20	72 000	16 500	80 000	
		Kaninchen 1:10	162 000	62 100	57 300	23 600	84 900	86 700	
Nr. 17	180 000	Meerschw. 1:10	83 400	18 300	67 800	45 000	74 100	80 000	
		Kaninchen 1:10	162 000	135 000	127 200	94 800	10 500	112 500	
Nr. 21	90 000	Meerschw. 1:10	60 000	47 900	3 600	4 200	14 100	8 400	
		Kaninchen 1:10	3 900	6 000	9 000	2 400	1 500	3 900	
Nr. 23	90 000	Meerschw. 1:10	60 000	1 100	10 200	1 800	1 800	25 200	
		Kaninchen 1:10	3 900	46 800	8 400	5 700	30 600	3 900	
Nr. 26	300 000	Meerschw. 1:10	300 000	2 700	9 600	12 300	87 600	200 000	
		Kaninchen 1:10	900	4 800	5 700	4 500	30 000	19 200	
Nr. 27	300 000	Meerschw. 1:10	300 000	3 600	51 600	65 400	180 000	250 000	
		Kaninchen 1:10	900	46 200	5 700	2 100	6 900	3 600	
Nr. 32	117 600	Meerschw. 1:10	106 200	4 800	4 800	3 200	6 900	38 400	48 000
		Kaninchen 1:10	38 900	600	6 600	7 200	33 600	33 900	40 500
		„ 1:20	83 400	4 800	8 700	26 100	58 200	80 000	80 000
Nr. 41	360 000	Meerschw. 1:10	180 000	15 600	22 000	37 200	52 800	77 400	90 000
		Kaninchen 1:10	180 000	62 400	68 400	90 000	90 000	90 000	90 000
Nr. 37	84 600	Meerschw. 1:10	49 800	2 400	3 600	41 400	38 400	95 000	48 000
		Kaninchen 1:10	49 200	900	5 100	32 400	46 200	47 500	49 000
Nr. 46	300 000	Meerschw. 1:10	85 800	24 600	12 900	15 600	22 500	60 600	
		Kaninchen 1:10	216 000	Kein Unterschied gegen die Komplementkontrolle					

zeigt, daß dasselbe Serum unter sonst gleichen Bedingungen mit verschiedenem Komplement angesetzt ganz verschiedene Resultate geben kann. Im allgemeinen hatte ich den Eindruck, daß Meerschweinchenkomplement dem Kaninchenkomplement überlegen war. Dies dürfte wohl unter anderem darin seinen Grund haben, daß das Kaninchen Serum an sich schon oft stark bakterizide Eigenschaften entfaltet, wodurch die nur mit Komplement angesetzte Kontrollplatte bereits so hochgradige Keimverminderung aufweist, daß eine deutliche Einwirkung des Immuserums nicht mehr erkennbar ist. Sehr schön beweist das z. B. Versuch mit Serum Nr. 26 und 27. Auch Nadolese¹⁾ konnte beobachten, daß Kaninchennormalserum im allgemeinen viel stärker bakterizid wirkt wie Meerschweinchen-

1) Archiv für Hygiene 1900 Bd. 37 S. 277; zitiert nach Hüne.

normalserum, während beide Sera oft gleich gutes Komplement liefern, eine Beobachtung, die H ü n e (l. c.) bestätigen konnte. Aus einer von H ü n e gegebenen Zusammenstellung geht hervor, daß bei Verwendung von 0,5 ccm 10% Kaninchenserum die Komplementkontrolle zuweilen nur wenige hundert Kolonien aufweist, während die Kochsalzkontrolle die 100 fache Anzahl Kolonien erkennen ließ. Die Tab. III und IV zeigen übrigens, daß die Platten, bei denen Typhusserum verwendet wurde, eine größere Kolonienzahl aufweisen können als die Komplementkontrolle. Dies läßt sich vielleicht so erklären, daß das Komplement an sich schon eine hohe bakterizide Wirkung entfaltet, daß diese aber nicht zur vollen Wirkung gelangen kann, wenn es durch den Ambozeptor des Immunsersums gebunden wird. Ich möchte jedoch hieraus nicht ohne weiteres den Schluß ziehen, daß bei dem bakteriziden Reagenzglasversuch das Meerschweinchenkomplement dem Kaninchenkomplement stets überlegen wäre. Denn auch Meerschweinchennormalserum zeigt oft starke bakterizide Wirkung, und andererseits liefert auch Kaninchennormalserum oft recht gute Resultate; es sei nur auf die Versuche mit Serum 32 und 37 der Tab. III verwiesen. Auch haben ja die meisten der eingangs erwähnten Autoren mit Kaninchenkomplement durchaus günstige Resultate erzielt. Es ist jedoch in Anbetracht des zuweilen beobachteten Versagens des Komplements sehr zu empfehlen, diejenigen Tiere, welche gutes Komplement liefern, zu bezeichnen und bei späteren Versuchen hauptsächlich zu verwenden, dagegen die minderwertigen auszuschalten.

4. Kontrollen.

Nach dem bisher Gesagten enthielten sämtliche Röhren 1 ccm der betreffenden Serumverdünnung, 0,5 ccm einer 5000 fach verdünnten Typhusbouillonkultur und 0,5 ccm 10% Normalserum.

Gleichzeitig wurden folgende Kontrollen angesetzt:

- a) Ein Röhren, welches nur 1,5 ccm Kochsalzlösung und 0,5 ccm Bouillonverdünnung enthielt.
- b) Ein Röhren, welches 1 ccm Kochsalzlösung, 0,5 ccm Bouillonverdünnung und 0,5 ccm 10% Normalserum enthielt.

e) Ein Röhren, welches nur Proben des im Versuche verwendeten Typhus- und Normalserums enthielt Kontrolle c hatte den Zweck, die Sterilität des Typhus- bzw. Normalserums zu beweisen. Nachdem in zahlreichen Versuchen eine Verunreinigung der betreffenden Platten nie beobachtet werden konnte, wurde diese Kontrolle nicht mehr regelmäßig, sondern nur ab und zu angesetzt.

Kontrolle a und b zeigten auf den Platten oft keine Verschiedenheit; zuweilen war aber, wie bereits erwähnt, auf der Kontrollplatte b eine deutliche bakterizide Wirkung des Normalserums in Form von einer mehr oder weniger hochgradigen Keimverminderung sichtbar.

Nach 2—3 stündigem Verweilen der Röhren im Brutschrank bei 37° wurden jedem Röhren einige ccm verflüssigten auf 45° C abgekühlten Agars zugesetzt, der Inhalt des Röhrens durch drehende und hebende Bewegungen mit dem Agar gut durchgemischt und dann zu Platten gegossen. Praktisch erwies sich hierbei, wenn nicht einzelne Agarröhren, sondern ein größeres Kölbchen verflüssigten Agars benutzt wurde.

Die Platten wurden nach 16—24 stündiger Bebrütung bei 37° besichtigt. Diese Zeit genügte, um deutliche Wirkung des bakteriziden Serums zu erkennen.

Die Besichtigung der Platten wurde mit bloßem Auge oder der Lupe vorgenommen. Als positiv wurde das Resultat dann angesehen, wenn eine deutliche Verminderung der Kolonien gegenüber der Komplementkontrolle wahrnehmbar war. Als sehr praktisch erwies sich folgendes Verfahren: Die mit Nummern versehenen Platten wurden nicht nur von dem Untersucher, sondern auch von einem Beobachter, dem die Resultate der Agglutination unbekannt waren, besichtigt. Dadurch erhielt die Diagnose »Baktericidie positiv bzw. negativ« einen hohen Grad von Objektivität. Die Diagnose »positiv« wurde nur bei deutlicher Keimverminderung gestellt, im anderen Falle wurde das Resultat des Versuchs als zweifelhaft bezeichnet. Es wurde der Versuch gemacht, zweifelhafte Resultate durch Auszählen der

Kolonien zu klären. Dabei konnte jedoch ein besonderer Vorteil des Auszählens nicht beobachtet werden; denn wie aus Tab. IV hervorgeht, gaben die mikroskopisch als zweifelhaft bezeichneten Platten auch beim Auszählen so wenig markante Unterschiede gegenüber der Kontrolle, insbesondere gegenüber den gleichzeitig untersuchten, von Nicht-typhuskranken stammenden Seris, daß sich brauchbare Schlüsse aus den Zahlen nicht ziehen ließen. Andererseits war bei deutlichen Unterschieden auch makroskopisch die Diagnose leicht.

Was das Maß der durch die Bakterizidie bewirkten Keimverminderung anlangt, so konnte ich derartige Unterschiede wie Stein und Korte, Laubheimer u. a., in deren Versuchen verschiedene Platten oft steril blieben, nicht so oft beobachten. Die bakteriziden Einwirkungen hielten sich in verhältnismäßig engen Grenzen. Eine deutliche Keimverminderung in stärkeren Verdünnungen als 1:10 000 fand ich nur selten. Offenbar war der von mir benutzte Typhusstamm weniger leicht beeinflussbar als die von den genannten Autoren benutzten Stämme. Über das Maß der meist beobachteten Keimverminderung orientieren die Tab. III und IV.

Bei der Auszählung der Platten wurde ein Leitzsches Mikroskop Okular 2, Objektiv 3 benutzt; das Gesichtsfeld hatte bei einer Tubuslänge von 170 mm einen Durchmesser von 1,74 mm, also einen Inhalt von 2,87 qmm. Die bei den Versuchen verwendeten Petrischalen besaßen einen Durchmesser von 95 mm, also einen Flächeninhalt von 7082,2 qmm. Die Keimzahl der ganzen Platte betrug also das 2961 fache oder rund das 3000 fache der Keimzahl eines Gesichtsfeldes. Der Genauigkeit halber wurden stets 10 verschiedene Gesichtsfelder gezählt und die Summe mit 300 multipliziert.

Mit sämtlichen auf Bakterizidie im Reagenzglas geprüften Seris wurde gleichzeitig die Widalsche Reaktion unter Verwendung einer aus mehreren Stämmen bestehenden Mischbouillon angestellt. Bei der Herstellung dieser Mischbouillon und der Ausführung der Agglutination mit derselben

Tabelle IV.

Versuch-Nr.	Erkrankungs- woche	Agglutina- tionsbefund	Komplement- kontrolle	Kolonienzahl auf den Platten bei einer Verdünnung von						Resultat bei makroskop. Betrachtung der Platten	
				1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16000		1:32000
1	1.	+	60 000			1 200	900	1 800	9 000	8 100	+
2	?	+	60 000			1 200	200	15 000	6 000		+
3	2.	+	150 000			8 400	82 200	52 200	75 000	84 000	+
4	?	0	150 000		76 200	100 200	114 600	105 000	123 000		0
5	1.	0	150 000		110 400	189 000	162 000	178 400	198 000		0
6	1.	+	60 000	2400	4 800	30 000	45 000	52 000	60 000		+ - ?
7	1.	+	60 000	10	20	900	2 400	2 400	6 600	11 100	+
8	1.	+	150 000			25 500	12 300	11 100	129 000	152 700	+
9	3.	+	600 000			21 900	68 400	75 000	64 800	300 000	+
10	2.	+	600 000			79 200	21 900	40 200	42 000	59 400	+
11	1.	schwach +	600 000			69 600	41 700	135 000	152 100	187 500	?
12	2.	+	30 000	25	50	70	82	100	ca. 200		+
13	2.	0	30 000	5	35	500	12 000	21 000	25 000		+
14	2.	+	30 000	15	90	150	3 200	25 000	32 000		+
15	1.	+	83 400			19 800	33 600	43 800	65 700	85 800	?
16	2.	+	300 000		69 000	87 600	89 400	117 000	120 000	300 000	0
17	3.	+	600 000	30	90	200	500	3 200	60 000	150 000	+
18	2.	+	11 100	120	180	2 400	1 500	2 700	12 000		+
19	6.	schwach +	163 200		3 000	9 600	16 800	73 200	115 200		+
20	6.	?	163 200		104 400	15 300	48 900	12 000	150 000		?
21	2.	+	163 200		4 800	4 800	3 200	6 900	38 400	48 000	+
22	2.	+	600 000	fast steril		25	50	180	270		+
23	2.	+	30 000	75	50	60	175	290	5 000		+
24	?	+	11 100	140	67	270	690	1 500	9 000		+
25	2.	0	49 800		50 000	22 200	48 600	47 000	21 600		0
26	2.	+	49 800		2 400	3 600	41 400	38 400	45 000		+
27	1.	+	120 000		6 000	15 000	30 000	30 000	90 000		+
28	2.	+	120 000		105 000	60 000	90 000	100 000			0
29	1.	+	17 800			5 400	6 000	4 500	2 700		+
30	1.	+	17 800			5 100	6 750	7 500	5 700		?
31	?	+	17 800			6 900	7 950	7 500	3 300		?
32	1.	0	17 800	6 450	3 000	6 150	22 950				?
33	1.	schwach +	17 800	8 850	8 850	4 500	3 150	4 950	1 950		+
34	1.	+	102 000			42 000	15 000	9 000	12 800		+
35	1.	0	102 000	12 800	65 400	19 800	59 400				0
36	?	+	102 000			4 860	13 200	9 000	18 000		+
37	1.	+	300 600			2 400	85 200	168 600	184 200		+
38	1.	0	300 600		184 800	214 200	277 800	294 000			0
39	4.	+	300 600			10 200	1 200	15 600	13 200		+

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Versuch-Nr.	Erkrankungs- woche	Agglutina- tionsbefund	Komplemen- kontrolle	Kolonienzahl auf den Platten bei einer Verdünnung von						Resultat bei makroskop. Betrachtung der Platten	
				1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16000		1:32000
40	1.	+	300 600			7 200	1 200	6 000	3 000		+
41	2.	+	34 800			3 300	3 900	27 900	14 700		+
42	?	0	34 800		122 400	105 600	63 600	76 200			0
43	3.	+	34 800			44 100	48 300	83 400	26 400		0
44	2.	+	34 800			96 600	106 200	86 400	81 000		0
45	3.	+	115 200		39 600	5 400	11 100	1 500	8 700	10 200	+
46	4.	0	115 200	83 400	76 800	87 000	107 700	135 900			0
47	2.	+	15 300			3 000	17 100	13 800	11 100	13 800	schwach ; ?
48	2.	0	15 300	5 100	15 300	5 400	20 700	7 800			?
49	2.	+	15 300	9 600	10 800	3 600	7 500	3 000			?
50	2.	+	900 000			6 300	47 700	71 100	76 500	228 000	+
51	2.	+	900 000			36 900	40 800	93 900	98 400	249 000	schwach ;
52	2.	+	600 000		117 300	123 600	150 000	5 700	17 400	112 500	+ schwach
53	4.	+	600 000		4 800	4 800	2 400	3 300	14 100	2 100	+
54	3.	+	350 000			3 900	7 200	30 000	200 000		+
55	4.	+	90 900			26 100	6 300	15 300	15 600	5 400	+
56	2.	+	60 000			6 000	2 400	6 000	30 000	21 000	+

wurde die von Hilgermann¹⁾ beschriebene Technik befolgt. Als »positiv« galt der Widal, wenn in einer Verdünnung von 1:120 deutliche Häufchenbildung eintrat; war dieselbe nur in einer Verdünnung von 1:60 deutlich, in einer Verdünnung von 1:120 aber nur angedeutet, so galt der Widal als »schwach positiv«. Noch geringere Werte galten als »zweifelhaft« bzw. »negativ«.

Die Ergebnisse dieser vergleichenden Versuche waren folgende:

Von 94 Blutproben ergab die Agglutination 53 mal ein positives, 32 mal ein negatives, 5 mal ein schwach positives und 4 mal ein zweifelhaftes Resultat.

Der bakterizide Reagenzglasversuch hatte in 46 Fällen ein positives, in 38 ein negatives und in 10 Fällen ein zweifelhaftes Ergebnis. Von den 38 negativen Fällen betrafen 6 Sera, welche deutlich positiven Widal zeigten und 3 solche,

1) Klin. Jahrbuch Bd. 18 S. 360.

bei denen die Widalsche Reaktion zweifelhafte Werte ergeben hatte. Bei positivem Ausfall des bakteriziden Reagenzglasversuches war in der Regel auch der Widal positiv; nur ein Serum zeigte deutliche bakterizide, aber keine agglutinierenden Eigenschaften; daß es sich in der Tat aber um einen Typhus handelte, wurde durch Züchtung der Bazillen aus dem Blute bewiesen. Ferner ergab der bakterizide Reagenzglasversuch ein positives Resultat bei 4 Seris, welche Typhusbazillen in der Verdünnung 1:120 nur schwach agglutinierten.

Außer diesen 94 Sera, welche von Patienten stammten, die an Typhus litten bzw. verdächtige Erkrankungserscheinungen boten, wurden noch 7 Sera von Rekonvaleszenten untersucht, deren Erkrankung 5 Wochen bis 3 Monate zurücklag, sowie von 3 Personen, welche an und für sich gesund waren, aber gelegentlich von Umgebungsuntersuchungen positiven Widal zeigten. Wie aus Tab. Vb hervorgeht, fanden sich im Blute von 6 Rekonvaleszenten Agglutinine, jedoch nur bei 3 in vitro nachweisbare Bakteriolyse. Bei den 3 Gesunden, deren Blutserum offenbar infolge einer längere Zeit zurückliegenden typhösen Erkrankung Typhusbazillen agglutinierte, wurden 2 mal durch den Reagenzglasversuch Bakteriolyse nachgewiesen.

Dazu kommen noch 2 Fälle, bei denen der Widal positiv war, die aber nach den Mitteilungen der einsendenden Ärzte klinisch nicht die Erscheinungen von Typhus boten. Bei dem einen ergab die Sektion Miliartuberkulose, bei den anderen handelte es sich um eine Scharlachsepsis. In beiden Fällen war der bakterizide Reagenzglasversuch negativ.

Endlich sei noch das bakterizide Verhalten von 6 Paratyphussera erwähnt. Dieselben wurden im Reagenzglasversuch sowohl mit Typhus wie mit Paratyphusbazillen angesetzt. Gegenüber Paratyphusbazillen wurde keinerlei Bakterizidie beobachtet; dagegen wurden 2 mal Typhusbazillen deutlich von denselben in vitro abgetötet. Neufeld und Hüne¹⁾, welche ähnliche Beobachtungen machten, führen dies darauf zurück, daß das Para-

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 25 S. 164.

Tabelle V.

					Im ganzen	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	Erkrankungs- tag unbekannt
Bakterizidie	positiv;	Widal	positiv	in	41 Fällen	16	13	7		5
„	„	„	schwach positiv	„	4 „	1	3			
„	„	„	negativ	„	1 „		1			
„	negativ	„	„	„	29 „	13	9	1	2	4
„	„	„	positiv	„	6 „	3	2	1		
„	„	„	zweifelhaft	„	3 „	2	1			
„	zweifelhaft	„	positiv	„	6 „	1	4			1
„	„	„	negativ	„	2 „	1		1		
„	„	„	schwach positiv	„	1 „	1				
„	„	„	zweifelhaft	„	1 „	1				

Tabelle V b.

			Die Krankheit lag zurück					
			5 Wochen	6 Wochen	7 Wochen	2 Monate	3 Monate	Gesund. Umgebungs- untersuchung
Bakterizidie	positiv,	Widal positiv	1	1		1		2
„	negativ,	„ negativ		1				
„	„	„ positiv			1	1	1	1

typhusserum gegen die homologen Bakterien nur B a k t e r i o t r o p i n e , gegen Typhusbazillen aber auch Bakteriolyse enthält. Diese Ansicht wird zwar von Bezola¹⁾ nicht geteilt. Doch konnte auch dieser bei der Versuchsanordnung von Stern und Korte ebensowenig bakterizide Wirkung gegen Paratyphusbazillen entdecken wie Töpfer und Jaffé und Tsuzuki²⁾. Nur Laubenheimer fand bei Paratyphus im Reagenzglasversuch Bakteriolyse von Paratyphusbazillen.

Faßt man nun das Ergebnis vorstehender Untersuchungen zusammen, so gelang es zwar einmal bei vollkommen negativem und 4 mal bei nur schwach positivem Widal die Diagnose Typhus

1) Zentralblatt für Bakteriologie. Originale Bd. 50 S. 54.

2) Zentralblatt für Bakteriologie. Originale 1910 Bd. 56 S. 86.

durch den bakteriziden Reagenzglasversuch zu sichern. Jedoch ergab derselbe andererseits bei sicheren Typhusfällen häufiger ein negatives Resultat als nach den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren, insbesondere Stern und Kort es, zu erwarten war. Da die Technik meiner bakteriziden Reagenzglasversuche mit der Stern und Kort es übereinstimmten, lag es nahe, den Grund der Verschiedenheit in der verschiedenen Ausführung der Agglutinationsprobe zu suchen. Stern und Korte agglutinierten die Sera mit einem Stamm, während ich eine aus verschiedenen Stämmen bestehende Mischbouillon verwandte. Diese Methode wird im hiesigen Untersuchungsamt bereits seit einer Reihe von Jahren mit vorzüglichem Erfolg angewandt, nachdem Hilgerman¹⁾ durch zahlreiche vergleichende Untersuchungen die Überlegenheit derselben über die mit einem Stamm vorgenommene Agglutinationsprobe nachweisen konnte. Gibt nun die mit einer Mischbouillon ausgeführte Widalsche Reaktion mehr positive Resultate als die mit nur einem Stamm ausgeführte, so muß sich auch das Verhältnis zwischen den Resultaten der Agglutination und Bakterizidie zugunsten letzterer verschieben, wenn man nur mit einem Stamm agglutiniert.

Ich stellte daher weitere vergleichende Untersuchungen an, indem ich eine größere Anzahl Sera auf ihr bakterizides Verhalten im Reagenzglas prüfte und gleichzeitig die Widalsche Probe mit der Mischbouillon und mit einem Stamm ausführte. Die mit einem Stamm vorgenommene Agglutination wurde im hängenden Tropfen ausgeführt; ich benutzte den bereits erwähnten leicht agglutinablen Stamm »Koblenz«. Als positiv wurde der Ausfall der mit demselben vorgenommenen Agglutinationsprobe angesehen, wenn sich in einer Verdünnung von 1:120 deutliche Häufchen bildeten, als schwach positiv, wenn dies nur in einer Verdünnung von 1:60 der Fall war, und als zweifelhaft bzw. negativ, wenn auch bei dieser Verdünnung nur andeutungsweise eine Agglutination eintrat. Wie aus Tab. VIa hervorgeht, ergaben die vergleichenden

1) Klin. Jahrbuch Bd. 18 S. 360; Bd. 19 S. 103.
Archiv für Hygiene. Bd. LXXV.

Versuche zwischen dem mit der Mischbouillon vorgenommenen Widal und dem bakteriziden Reagenzglasversuch ein ganz ähnliches Resultat wie bei der ersten Versuchsreihe; zwar konnte auch jetzt wieder einmal bei negativem und 2 mal bei schwach positivem Widal die Diagnose durch den Nachweis spezifischer Bakteriolyse gesichert werden; es standen aber andererseits 34 positiven und 2 schwach positiven Agglutinationsresultaten nur 29 positive Bakterizidversuche gegenüber. Das Verhältnis verschiebt sich aber sofort zugunsten des bakteriziden Versuches, wenn man die nur mit einem Stamm vorgenommene Agglutinationsprobe zum Vergleich heranzieht. Alsdann standen den 29 positiven Bakterizidversuchen nur 21 positive und 9 schwach positive Widals gegenüber; selbst wenn man die schwach positiven Agglutinationen als beweisend ansieht, leistete der bakterizide Reagenzglasversuch fast mindestens ebensoviel als die mit einem Stamm angestellte mikroskopische Agglutinationsprobe; allerdings versagte der bakterizide Versuch in 5 Fällen mit positivem Widal, dafür lieferte er in 5 anderen Fällen, in denen die mikroskopische Agglutination versagte, ein positives Resultat.

Die Versuche führten also zu ähnlichen Ergebnissen, wie sie Stern und Korte beobachteten; sie zeigten aber gleichzeitig (vgl. Tab. VIc) die Überlegenheit der Typhusmischbouillon über die mit einem Stamm vorgenommene mikroskopische Agglutinationsprobe. Die im hiesigen Untersuchungsamt gewonnenen günstigen Erfahrungen wurden übrigens auch von anderen Autoren, z. B. Blasius und Kathé¹⁾ und Blasius²⁾ bestätigt. Das von Geisse³⁾ beobachtete Versagen der Mischbouillon kann ich mir nur damit erklären, daß die von ihm benutzten Stämme nicht geeignet waren; denn ich fand selbst, daß eine beliebige Auswahl von Stämmen zu Mißerfolgen führen kann, und daß man oft lange probieren muß, bis man geeignete Stämme herausgefunden hat.

1) Hygien. Rundschau 1909 S. 521.

2) Hygien.-Rundschau 1910 S. 345.

3) Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 48 S. 517.

Tabelle VI.

A.	Im ganzen	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	Erkrankungs- tag unbekannt
Mischbouillon positiv, Bakterizidie positiv in . . .	26 Fällen	8	10	3	1	4
Mischbouillon positiv, Bakterizidie negativ in . . .	4 „	3	1			
Mischbouillon positiv, Bakterizidie zweifelhaft in .	4 „	1	2			1
Mischbouillon negativ, Bakterizidie positiv in . . .	1 „		1			
Mischbouillon negativ, Bakterizidie negativ in . . .	11 „	5	4		1	1
Mischbouillon schwach positiv, Bakterizidie positiv in . . .	2 „	1	1			
B.						
St. Koblenz positiv, Bakterizidie positiv in . . .	16 „	7	5	2	1	1
St. Koblenz positiv, Bakterizidie negativ in . . .	2 „	2				
St. Koblenz positiv, Bakterizidie zweifelhaft in .	3 „	1	2			
St. Koblenz negativ, Bakterizidie positiv in . . .	5 „	1	3			1
St. Koblenz negativ, Bakterizidie negativ in . . .	11 „	5	4		1	1
St. Koblenz schwach positiv, Bakterizidie positiv	8 „	1	4	1		2
St. Koblenz schwach positiv, Bakterizidie zweifelhaft . . .	1 „					1
St. Koblenz zweifelhaft, Bakterizidie negativ	2 „	1	1			
C.						
Mischbouillon positiv, Stamm Koblenz positiv in	21 „	10	7	2	1	1
Mischbouillon positiv, Stamm Koblenz negativ in	3 „		2			1
Mischbouillon positiv, Stamm Koblenz schwach positiv in .	8 „	1	3	1		3
Mischbouillon positiv, Stamm Koblenz zweifelhaft in . . .	2 „	1	1			
Mischbouillon negativ, Stamm Koblenz negativ in	12 „	5	5		1	1
Mischbouillon schwach positiv, Stamm Koblenz negativ in .	1 „	1				
Mischbouillon schwach positiv, St. Kobl. schwach positiv in .	1 „		1			

7*

Bierotte¹⁾ sah zuweilen bei Verwendung von Mischbouillon Spontanagglutination; in der ersten Zeit, in der ich mit Mischbouillon arbeitete, hatte ich ebenfalls zuweilen dieses Mißgeschick. Es läßt sich aber vermeiden, wenn man folgende Punkte genau beachtet: Die verschiedenen Kulturen, die natürlich an sich nicht spontan agglutinieren dürfen, müssen sehr sorgfältig in die Bouillon verrieben werden; letztere muß nach der Formalinisierung 24 Stunden in hohen Zylindern sedimentieren; bei allen Manipulationen ist peinlichst steriles Arbeiten nötig. Mischbouillon, bei deren Bereitung diese Forderungen streng beobachtet wurden, war monatelang benutzbar, ohne Spontanagglutination zu zeigen.

Schlußfolgerung.

Der bakterizide Reagenzglasversuch kann positive Ergebnisse liefern in Fällen, in denen die Widalsche Reaktion negativ ist. Bei Verwendung mehrerer Stämme zur Anstellung der Widalschen Reaktion in Form einer Typhusmischbouillon ist zwar ein Versagen der Widalschen Reaktion seltener als bei Verwendung nur eines Stammes.

Immerhin führt auch diese Methode mitunter zu negativen oder zweifelhaften Ergebnissen, welche zuweilen durch den bakteriziden Reagenzglasversuch geklärt werden können.

Es dürfte sich daher empfehlen, bei negativem oder zweifelhaftem Widal und Fortbestehen des klinischen Verdachts zur Sicherung der Diagnose den bakteriziden Reagenzglasversuch heranzuziehen.

Von Bedeutung ist es, durch Vorversuche einen bakterizid leicht beeinflussbaren Typhusstamm sowie die brauchbares Komplement liefernden Tiere herauszufinden und für die eigentlichen Versuche vorrätig zu halten.

1) Hygien. Rundschau 1911 II. 6.

Die Resultate des bakteriziden Reagensglasversuches werden um so bessere sein, je sorgfältiger man bei der Auswahl des zur Aussaat benutzten Typhusstammes und des Komplement liefernden Normalserums ist.

Zum Schlusse möchte ich nicht verfehlen, Herrn Kreisarzt Dr. Hilgermann für die Anregung und Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank abzustatten.

Neue Untersuchungen über die Bedeutung der Blausäure für die Giftigkeit des Tabakrauchs.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann** und Dr. **Karl Gundermann**.

(Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. April 1912.)

Vorbemerkung von **K. B. Lehmann**.

Die Frage nach der Gesundheitsschädlichkeit der Blausäure im Tabakrauch habe ich in meiner Arbeit »Über das Tabakrauchen«¹⁾ ohne viel eigene Versuche, an der Hand der Literatur und kritischer Betrachtungen dahin entschieden, daß absolut kein Grund vorliegt, den minimalen Blausäuremengen, die bisher im Rauche nachgewiesen wurden, eine Bedeutung für die Wirkung des Tabakrauches zuzuschreiben. Nun hat Herr Professor Dr. Friedel Pick in Prag auf dem Kongreß für innere Medizin in Wiesbaden im Frühling 1910 den Standpunkt vertreten, daß doch wahrscheinlich gewisse stark giftige Tabaksorten ihre Wirkung zum Teil den Blausäuremengen verdanken, die sie im Rauch liefern. Seine Ansicht stützt er auf klinische Erwägungen, die hier nicht zu diskutieren sind. Schon im September 1909 hatte mich Herr Professor Pick um neue Versuche über die tatsächlichen Blausäuremengen beim Verrauchen verschiedener Tabaksorten gebeten. Obgleich es mir unwahrscheinlich schien, daß die Bearbeitung dieser Frage das noch vielfach dunkle Problem der Tabakrauchwirkung stark fördern würde, hielt ich es für meine Pflicht, dem Wunsche des Herrn Kollegen zu

1) d. Archiv Bd. LXVIII.

entsprechen und soweit möglich die Zyanfrage endgültig zu entscheiden. Erst vom Winter 1910 ab fanden wir Zeit, der Frage ernstlich näher zu treten, nachdem im Sommer 1910 Orientierungsversuche die Schwierigkeit des Problems hatten erkennen lassen.

* * *

Ehe wir auf eigene Untersuchungen eintreten, müssen wir mit ein paar Worten zu *Toth's* Annahme Stellung nehmen (Ch.-Ztg. 1910 Nr. 34 S. 298), der Tabakrauch enthalte die Zyangruppe als Dizyan $(CN)_2$ und nicht einfach als Blausäure. Die Gründe von *Toth* sind keineswegs überzeugend und in seiner zweiten Arbeit (Ch.-Ztg. 1910 Nr. 152 S. 1357) scheint er die Dizyanannahme bereits selbst wieder verlassen zu haben.

Wir vertreten folgenden Standpunkt:

1. *Toth* hat nirgends direkt nachgewiesen, daß Dizyan beim Rauchen entsteht.
2. Entstände es, so würde es sich nach *Wöhler* (wie auch *Toth* annimmt) mit Natronlauge zerlegen:
$$(CN)_2 + 2 NaOH = CNNa + CNONa + H_2O.$$
3. *Toth* hat nirgends den Nachweis geführt, daß $CNONa$ in seinen Absorptionsgefäßen enthalten ist. — Unsere Versuche, dies mit Hilfe von Kobaltazetat zu tun, waren erfolglos.
4. Wir haben uns überzeugt, daß $CNONa$ nicht wie $CNNa$ in Ferrozyannatrium überzuführen ist. Entsteht wirklich primär Dizyan, so sind die *Toth'schen* Blausäurewerte zu verdoppeln, um als Dizyanzahlen zu gelten.
5. Auch unsere Methoden mit Silber (s. u.) bestimmen bloß die Blausäure im Rauch und geben keinen Anhaltspunkt, ob sie von äquimolekularen Mengen Zyansäure, entstanden aus Dizyan, begleitet sind.
6. Da aber Dizyan nach *B. Bunge* (Arch. f. exp. Path., Bd. 12 S. 41) etwa viermal weniger giftig ist als Blausäure, so ist die Unsicherheit, ob primär Dizyan entsteht, ohne praktische Bedeutung. Wir wollen im folgenden

bloß annehmen — da *B u n g e s* Versuche zu einer ganz scharfen Vergleichung der Giftigkeit von Dizyan und Blausäure nicht ausreichen —, die Giftigkeit von Dizyan sei halb so groß wie von Blausäure.

7. Nach dieser letzteren (für uns möglichst ungünstigen) Annahme ist es gleich für den Raucher, ob das Dizyan unverändert aufgenommen wird oder ob es vorher in ein Molekül Blausäure und ein Molekül ungiftige Zyansäure zerfällt ¹⁾).

Damit ist die Frage für uns praktisch erledigt, wer sie weiter fördern will, wird sich näher mit der schwierigen Chemie der Zyansäure zu beschäftigen haben. Wir wenden uns nun zur Mitteilung unserer methodischen Bemühungen, um genaue Blausäurewerte.

Dabei übergehen wir die vielen zeitraubenden Versuche, die auf irgendeinem Weg isolierte Blausäure als Berlinerblau zu bestimmen. Auch durch die genaueste Befolgung der übrigens untereinander recht abweichenden Vorschriften kamen wir zu keinem uns voll befriedigenden Resultat. Niemals konnten wir aus bekannten Blausäuremengen mehr wie 60 bis 70% der theoretischen Ferrozyankaliums erhalten, was uns gegen *Toth s* Fällungsmethode sprach. Aber auch an der kolorimetrischen Bestimmung nach *E. B e r l* und *M. D e l p y* Ber. 43 II S. 1430, wobei bekannte Zyankaliumlösungen gleichzeitig verarbeitet werden, konnten wir keine Freude finden. Wir wollen gerne zugeben, daß ein Teil der Schuld auf unserer Seite ²⁾ sein kann, um so mehr, als unsere Zahlen recht gut mit *T o t h* stimmen. Jedenfalls glauben wir Methoden gefunden zu haben, die allen Anforderungen entsprechen, da sie nach allen Richtungen kontrolliert und leicht ausführbar sind. Wir teilen den Weg, den wir gegangen, in Kürze mit.

¹⁾ Über die Zyansäure ist in der Literatur wenig zu finden. Wir gaben einer Katze einmal 300 mg reines, selbst dargestelltes zyansaures Kalium subkutan, einmal 700 mg in Milch — beides ohne jede Wirkung.

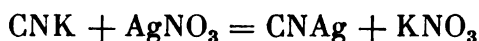
²⁾ Mindestens haben viele frühere Autoren ähnliche Schwierigkeiten dabei gehabt wie wir, so hat *T h o m s* z. B. seine auffallend niedrigen Zahlen mit Berlinerblau gefunden.



I. Zunächst prüften wir nochmals die Bestimmungsmethoden für Blausäure in reinen wäßrigen Lösungen, die vor Jahren aus fabrikhygienischen Gründen im hiesigen Hygienischen Institut **W a g s c h a l**¹⁾ und **A h l m a n n**²⁾ studiert hatten.

Es wurde die gleiche verdünnte Blausäurelösung, die durch Destillation von Zyankalium und Schwefelsäure erhalten war, hintereinander mit den drei üblichen Titrationsmethoden³⁾ untersucht.

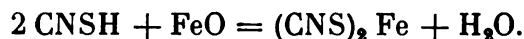
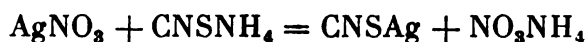
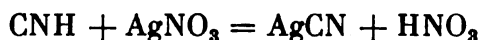
1. Methode nach **M o h r**. Titrierung in neutraler Lösung (Neutralisation durch CaCO_3) mit $\frac{1}{10}$ Silbernitratlösung unter Verwendung von Kaliumchromat als Indikator.



$$1 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ normal AgNO}_3 = 2,7 \text{ mg HCN}$$

verbraucht für 10 ccm unserer Blausäure 3,1 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsilberlösung also $3,1 \cdot 2,7 = 8,3$ mg Blausäure.

2. Methode nach **V o l h a r d**. Titrierung in salpetersaurer Lösung. Man gibt überschüssiges Silbernitrat hinzu, filtriert ab und bestimmt im Filtrat das Silbernitrat durch Rhodankaliumlösung. Indikator Eisenalaun.



1 ccm $\frac{1}{10}$ normal $\text{AgNO}_3 = 2,7$ mg HCN. Zu 10 ccm unserer Blausäure wurden 20 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsilberlösung zugesetzt. Das Filtrat brauchte 16,9 ccm $\frac{1}{10}$ Rhodan ammoniumlösung, also $3,1 \cdot 2,7 = 8,3$ mg Blausäure.

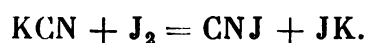
1) **F. W a g s c h a l**: Quantitative Studien über die Giftigkeit der Blausäuredämpfe. Med. Dissertation Würzburg.

2) **H. A h l m a n n**: Weitere Untersuchungen über die Giftigkeit der Blausäure. Med. Dissertation Würzburg 1905.

3) Gelegentlich haben wir auch die **L i e b i g**sche Methode verwendet: Setzt man zu einer alkalischen Blausäurelösung Silbernitrat, so wird das entstehende Zyan Silber so lange in Lösung gehalten, bis auf 1 Mol CNAg nur noch 1 Mol CNK vorhanden ist, oder bis gerade die Hälfte des CNK durch Silber umgesetzt ist. Hier bedeutet 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normal- $\text{AgNO}_3 = 5,4$ mg HCN.

3. Jodometrische Bestimmung in neutraler Lösung (Neutralisation mit CaCO_3). Man setzt $n/10$ -Jodlösung zu, bis schwach braune Färbung auftritt.

Die Umsetzung geschieht nach der Gleichung:



1 ccm $n/10$ -Jodlösung = 1,35 mg HCN.

Auf 10 ccm unserer Blausäurelösung verbraucht 6,0 ccm $n/10$ -Jodlösung.

Also gefunden: $6 \cdot 1,35 = 8,1$ mg HCN.

II. Reine wässrige Blausäurelösungen lassen sich also scharf titrieren. Es war nun zu prüfen, ob auch bekannte Blausäuremengen, wenn sie mit einer Auflösung von Teer in Wasser gemischt werden, bestimmbar sind.

Es wurden getrocknete Kastanienblätter (etwa 20 g) durch Luftdurchsaugen verraucht und der Rauch durch chlorfreie Natronlauge geleitet. Hierauf wurde eine bekannte Menge Blausäurelösung zugesetzt, mit Schwefelsäure vorsichtig tropfenweise durch eine Trichterröhre angesäuert und erwärmt. Die abdestillierte Blausäure wurde in Natronlauge aufgefangen und nach Volhard titriert.

A) 200 ccm Teerwasser + 15 ccm Blausäure mit 57 mg HCN, gefunden im ersten Destillat 52 mg,
im zweiten Destillat 3,8 »
Summa 55,8 mg statt 57 mg.

B) 200 ccm Teerwasser + 5 ccm starker Blausäure mit 110 mg HCN.
Gefunden im ersten Destillat 100,4 mg,
im zweiten Destillat 4,05 » statt 110 mg,
Summa 104,5 mg.

Also: Aus Teerlösungen läßt sich Blausäure mit wenigen Prozenten Verlust wiedergewinnen.

III. Läßt sich aus Teerlösungen, durch die man blausäurehaltige Luft saugt, die absorbierte Blausäure quantitativ wieder finden?

Wir ließen zunächst durch drei Waschflaschen mit $\frac{1}{2}$ proz. Natronlauge den Rauch von 20 g Kastanienblättern streichen. Hierauf saugte man einen Luftstrom hindurch, der eine Blausäurevorlage passiert hatte.

A) Aus der Blausäurevorlage verschwand 55 mg CNH.

Durch saure Destillation und Titrierung nach Volhard wurde aus den Natronvorlagen erhalten 54,3 mg CNH.

B) Aus der Blausäurevorlage verschwanden 36 mg CNH.

Durch saure Destillation und Titrierung nach Volhard wurde gefunden 32,7 mg CNH.

Die obige Frage ist also zu bejahen.

IV. Wird Blausäure von alkalischem Wasser in 3—4 hintereinandergeschalteten Waschflaschen quantitativ absorbiert, wenn sie mit einem starken Strom von Rauch aus verbrennenden Kastanienblättern gemischt ist?

Diese Frage mußten wir anfangs verneinen. Von den vielen vergeblichen Versuchen, die Blausäure, die aus einer Vorlage verschwunden war, in den Waschflaschen wiederzufinden, teilen wir nur drei mit. Die Versuchsanordnung bestand darin, daß sich dem Rauchgasstrom ein durch Blausäure geleiteter Seitenstrom beimischte, dessen Blausäuregehalt aus der Titerabnahme dieser Vorlage zu berechnen war.

Die Kastanienblättermenge betrug stets . . . 20 g.

A) Im Teer zu erwartende Blausäure (Abnahme der Vorlage)	414,9 mg
Gefunden im sauren Destillat (Titration nach Volhard)	370,4 »
B) Im Teer zu erwartende Blausäure (Abnahme der Vorlage)	50,2 »
Gefunden	31,2 »
C) Im Teer zu erwartende Blausäure (Abnahme der Vorlage)	114,0 »
Gefunden	72,3 »

V. Während wir uns mit den sub IV. geschilderten unbefriedigenden Resultaten quälten, wurden wir auf die wichtige Arbeit

von T o t h aufmerksam (Ch. Zeitung 1910, Nr. 34 S. 298), die behauptet, daß die Zyanverbindungen aus dem Rauch nur durch sehr große Kalilaugeüberschüsse (125 g Ätzkali auf 60 g Tabak) vollständig absorbiert werden könnten.

Wir überzeugten uns bald, daß in der Tat durch drei Vorlagen mit 1 proz. Natronlauge beim raschen Durchsaugen am Rande genügend Kohlensäure hindurchgeht, um ein nachgeschaltetes Barytwasser zu trüben. Beim Nachlesen der L e h m a n n s c h e n Tabakstudien fand sich denn auch, daß auf 100 g Zigarren 0,211 g NH_3 und etwa 4,6 g CO_2 gebildet wurden, daß also im Rauch, obwohl er auf Lackmus intensiv alkalisch reagiert, die saure Komponente weit überwiegt. Als wir nun auf T o t h s Vorschlag hin den Rauch von 30 g Tabak durch 60 g Ätznatron leiteten, vermochten wir in der Tat eine zugemischte Blausäuremenge wiederzufinden.

Dabei erwies es sich als zweckmäßig, die alkalische Teerwasserzinkaliummischung zunächst einmal alkalisch zu destillieren, um eine Reihe von Teerprodukten abzutrennen. Wurde hierauf sauer destilliert, so erhielt man ein wesentlich reineres Destillat als vorher, und nun machte die Ermittlung der Blausäure keine besonderen Schwierigkeiten, die Silberfällung lieferte einen relativ reinen, nur sehr schwach braungefärbten Niederschlag usw.

Es wurden in den folgenden vier Versuchen dem Rauch von 20 g Kastanienblättern beigemischt und wiedergefunden mg Blausäure:

	Beigemischt	Gefunden
A.	26,7	23,5
B.	35,6	36,4
C.	73,5	74,5
D.	92,9	91,9
E.	0	5,4

Versuch E. stellte einen Kontrollversuch mit 30 g Kastanienblättern dar, der auch ein bescheidenes positives Resultat lieferte.

VI. Es wurde nun versucht, T a b a k r a u c h einen Seitenstrom von Blausäureluft beizumischen und in der stark alkalischen Vorlage die Blausäure wiederzufinden. Die Aufgabe gelang,

es war aber beim Verrauchen von Tabak geradezu absolut notwendig, vor der sauren Destillation alkalisch zu destillieren, da man sonst bei der direkten sauren Destillation ein bräunliches Destillat erhielt, das beim Ansäuern dunkelbraun wurde und mit Silber nicht zu verarbeiten war. Die alkalische Destillation entfernte bräunlich gelbe Körper von abscheulichem Geruch und ein grünlich gelbliches Öl, das auf dem Destillat schwamm (Paraffin?). Das später gewonnene saure Destillat war blaß und gut mit Silber zu verarbeiten.

Angewendet 20 g starker österreichischer Militärtabak. Zugegeben in Dampfform 97,2 mg Blausäure, wiedergefunden 94,2 mg. Da 20 g dieses Tabaks allein (s. u.) ca. 10 mg Blausäure liefern, so darf man mit diesem Resultat wohl zufrieden sein.

VII. Nachdem Blausäuredämpfe, denen man Tabakrauch zuführte, titrimetrisch quantitativ gefunden waren, gingen wir endlich an die Untersuchung von Tabak ohne Zusatz.

- A) 30 g Militärtabak aus Österreich, eine sehr starke Sorte, ergab 1,35 mg Blausäure.
- B) 30 g des gleichen Tabaks ergab 0.
- C) 40 g einer billigen mittelstarken Zigarre lieferten 2,43 mg Blausäure.

Diese Zahlen erscheinen sehr nieder: auf 100 umgerechnet bedeuten sie 0—4,4—6 mg, also nur bis 0,006%. Die Mehrzahl der Autoren fand höhere Werte, und wir mußten uns sagen, daß wahrscheinlich kleine Blausäuremengen neben viel Kohlensäure trotz Natronlaugenüberschusses in den Vorlagen schlecht absorbiert würden. Wahrscheinlicher noch war es, daß beim sauren Destillieren der stark kohlensäurehaltigen Zyannatriumlösungen in den alkalischen Vorlagen eine ungenügende Bindung von Blausäure stattfinde.

VIII. Wir versuchten deshalb, das saure Destillat der vereinigten Alkaliwaschflaschen direkt in zwei mit Salpetersäure angesäuerten Vorlagen mit Silberlösung aufzufangen, so konnte die Kohlensäure nicht stören.

106 Neue Untersuchungen über die Bedeutung der Blausäure etc.

Versuch A. 39,4 mg HCN wurden in eine mit CO_2 gesättigte 50 proz. NaOH in einen Rundkolben gegeben und nach vorsichtigem Ansäuern mit H_2SO_4 mit Wasserdampf destilliert.

Als Vorlagen dienten

- I. 30 ccm n/10 AgNO_3
- II. 20 ccm n/10 AgNO_3 .

Aus Vorlage I	wurden nach Volhard	gefunden	36,5 mg HCN
» » II	» » »	»	1,9 » »
			zusammen 38,4 mg HCN
			statt 39,4 mg.

Versuch B ergab: Angew. HCN 57,6 mg
Gef. HCN 55,9 »

IX. Da bei Anwendung dieser Methode auf Destillate aus Tabakrauchvorlagen nicht nur Blausäure, sondern auch HCl in die Silberlösung gelangen mußte, so war eine nachherige Untersuchung des Niederschlags der unlöslichen Silbersalze notwendig.

Der Silberniederschlag wurde abgesaugt, mit Salpetersäure und Wasser sorgfältig ausgewaschen, getrocknet und Filter samt Niederschlag mit rauchender Salpetersäure behandelt. Das Zyan-silber wurde in salpetersaures Silber verwandelt, Chlorsilber blieb ungelöst zurück. Das gelöste Silber wurde titrimetrisch nach Volhard bestimmt und aus dem Silber die Blausäure berechnet.

X. Um einen Teergehalt und event. andere organische Verunreinigungen aus dem Silberniederschlag zu entfernen, wurde er, nachdem er abgesaugt und mit verdünnter Salpetersäure gründlich ausgewaschen war, in Ammoniak heiß gelöst und aufs neue mit Salpetersäure gefällt. In manchen Fällen, wenn die ammoniakalische Lösung nicht ganz farblos war, wurde sie kurze Zeit mit reiner Tierkohle gekocht, ehe man sie mit Salpetersäure fällte. So gelang es meist schöne Silbersalze zu bekommen, deren Chlorgehalt (Analyse s. u.) sehr klein war und die fast reines Zyan-silber waren.

XI. Die Resultate dieser Versuche sind in folgender Tabelle kurz dargestellt.

Nr.	Zigarrensorte	Menge Tabak in g	Gefundene HCN	Also in 100 T.	Bemerkung
1	Külföldi Szivar . .	27	11,8	0,043	Chlorsilber nicht abgeschieden.
2	„ „ . .	67	27,0	0,040	
3	Flor solitaria Hab. .	52	34,0	0,065	Chlorsilber abge- trennt, aber Teer nicht durch Lösung der Silberverbindung in NH ₃ entfernt.
4	Don Carlos . . .	54	37,3	0,069	
5	Britanica entnikot.	50	35,6	0,071	
6	„ nikotinh. . .	45	41,04	0,091	
7	Flor de Bahia . .	52	50,2	0,096	
8	Aguilas Imperiales .	42	33,8	0,08	Alle Vorichtsmaß- regeln angewandt.
	„ „ . .	35	33,75	0,096	
9	Britanica nikotinh.	40,0	19,7	0,05	
10	„ „ . .	38,0	19,9	0,052	
11	„ „ . .	35,0	12,1	0,034	

Die Zahlen für Blausäure sind in den absolut einwandfreien Versuchen Nr. 9, 10 u. 11 zwischen 0,034 und 0,052%, also ziemlich hoch — zehnmal höher, als wenn man das saure Destillat wieder in Natronlauge auffängt. Auffallend ist, daß in den Versuchen, wo der Teer nicht entfernt wurde, neben ähnlichen Werten 0,04—0,065 solche bis 0,096 auftauchen, ohne daß die Tabaksorte dafür genügende Erklärung liefert. Es war also wieder zu forschen nach der Ursache dieser Schwankungen.

XII. Die vorzügliche Bindung der Blausäure durch das Silber veranlaßte uns¹⁾, zu einer Methode zurückzukehren, die wir ganz am Anfang einmal flüchtig probiert, aber bald verlassen hatten: Leitung des Rauches direkt durch saure Silbernitratlösung. Das Verfahren gibt sehr hübsche Resultate, sowie man unter Benutzung der Erfahrungen der früheren Untersuchungen des Instituts eine Röhre mit trockener Watte der Silberlösung vorschaltet. Die Hauptmenge des Teers wird hier zurückgehalten, ohne daß, wie besondere Versuche zeigten, Blausäure gleichzeitig absorbiert wird. Vielmehr gelangt die gesamte Blausäure in die Silberlösung, der Niederschlag ist wohl noch

1) Weitere Vorzüge der Methode sind: Ersatz von 125 g chlorfreiem Ätznatron durch 60—100 ccm $\frac{1}{10}$ Silberlösung. Vermeiden des sehr lästigen, allmählichen Ansäuerns der starken Natriumkarbonatlösung, viel rascheres Arbeiten.

auffallend braunschwarz gefärbt, kann aber, wie oben (sub X.) angegeben, durch Lösen in Ammoniak und event. Anwendung von Tierkohle von Teer befreit und mit Salpetersäure wieder gefällt werden.

XIII. Ehe wir auf weitere quantitative Resultate dieser Methode eingehen, führen wir einige Analysen der gereinigten Silber-salze aus Rauch an, welche zeigen, daß das »Zyansilber« in der Tat bis auf 5—20% Chlorsilber wirklich aus Zyansilber besteht.

A) Eine Menge von 44,4 mg gereinigtem, trockenem Silber-niederschlag gab an rauchende Salpetersäure Silber ab, entsprechend 7,83 mg Blausäure, daraus berechnen sich 40 mg AgCN, bleiben 4,4 mg für AgCl übrig.

Die Analyse ergab: Der in rauchender Salpeter-säure unlösliche Rückstand wurde in Ammoniak gelöst, das Silber in der Lösung kolorimetrisch mit Schwefel-wasserstoff bestimmt. Gefunden 1,7 mg Silber, ent-sprechend 2,2 mg AgCl.

Es bestanden also die 44,4 mg Silbersalz aus 40 mg AgCN + 2,2 mg AgCl.

B) Eine Menge von 124,7 mg Silbersalz wurde genau ebenso analysiert.

Es bestanden die 124,7 mg Silbersalz aus 104,0 AgCN + 19,5 mg AgCl.

Da in dem Tabakrauch neben Zyan auch Rhodanverbindungen enthalten sind, so war der Silberniederschlag noch auf Rhodan-silber zu prüfen.

Zu diesem Zwecke wurden 60 mg AgCN + AgCl mit Soda und Salpeter geschmolzen, um den Schwefel des event. vorhan-denen Rhodansilbers in H_2SO_4 zu verwandeln. Nach dem Lösen der Schmelze in Salzsäure und Kochen mit $BaCl_2$ entstand keine Spur von Trübung, woraus auf Abwesenheit von Rhodansilber ge-schlossen werden darf.

XIV. Nach der Methode sub XII. — direkte Absorption in Silbernitratlösung und Bestimmung des Zyansilbers im gereinigten Niederschlag — wurde nun zunächst eine Tabaksorte untersucht.

- A) 23 g (5 Zigarren) Marke Britanica liefern 10,3 mg = 0,044% HCN.
- B) 26 g (5 Zigarren) Britanica, deren Rauch 59 mg Blausäure zugeleitet wurden, lieferten statt 11 + 59 = 70 mg tatsächlich 67 mg (95,7%).
- C) 27,7 g (5 Zigarren) Britanica, deren Rauch 130,2 mg Blausäure zugeleitet wurden, lieferten statt 12 + 142,2 tatsächlich 139 mg (98%).
- D) 22,8 g Britanica lieferten analog statt 10 + 51,3 = 61,3 tatsächlich 60,2 mg (98,2%).

XV. Nach diesen Feststellungen haben wir zunächst einige Zigarrensorten (stärkere und schwächere) nach dieser endgültigen Methode auf ihren Blausäuregehalt untersucht. Die Resultate dieser Versuche geben wir in Tabellenform wieder.

Tabaksorte	Menge Tabak in g	Gefundene HCN in mg	Gefundene HCN in %	Besondere Bemerkung
Britannica entnikotinis.	23	10,3	0,045	extra langsam gesaugt
" "	24	11,6	0,048	
Flor de Bahia (Brasil) .	65	47,3	0,073	Ist sehr gut und fest gewickelt, verbrennt sehr gleichmäßig
" " " " .	44	32,4	0,074	
Britannica nikotinhaltig	25,6	20,5	0,08	
" "	26,0	20,0	0,077	
Virginia	35	32,4	0,092	
"	50	35,1	0,07	langsam gesaugt
Aguilas Imperiales . .	35	46,4	0,13	rasch verbrannt
" " . .	47	47,2	0,10	

Nach diesen Versuchen ergibt sich ein Blausäuregehalt, der mit den Resultaten der Toth'schen Untersuchungen in guter Übereinstimmung steht.

Es ist auf den ersten Blick der Schluß sehr naheliegend, — je stärker eine Zigarre um so höher ihr Blausäuregehalt im Rauch, also hängt die Stärke der Zigarre, wie F. P i c k vermutete, in der Tat vom Blausäuregehalt ab.

Daß wir diesen Schluß nicht machen, verdanken wir den Schwankungen von Gehalt an Blausäure bei unseren früheren Resultaten. Wir hatten bei den Aguilas Imperiales früher (S. 107)

nur 0,8—0,96, bei der entnikotinierten *Britanica* 0,071 % gefunden, also Zahlen, die viel näher beieinander liegen als die jetzigen.

XVI. Gleichzeitig wurde aber glücklicherweise auch bemerkt, daß bei dem zweiten *Virginia*-versuch die Luftdurchsaugung zufällig besonders langsam gewesen war, und daß dabei der größte Unterschied zwischen zwei Analysen erhalten wurde, der überhaupt vorkam. Auch war aufgefallen, daß die entnikotinierten *Britanica* in beiden Versuchen sehr langsam verbrannt waren.

Es tauchte der Gedanke auf, daß die Menge der Blausäure in den einzelnen Versuchen mit der gleichen Zigarre deswegen schwanke, weil je nach der Ventilationsgröße der Zigarre verschieden große Blausäuremengen gebildet werden.

Es wurde nun zunächst mit einer bisher noch nicht untersuchten Sorte — österreichische Regiezigarre mittlerer Stärke (*Flor solitaria*) — ein Versuch mit gemessener sehr starker und sehr schwacher Ventilation gemacht. Zu unserer großen Freude mit dem folgenden Resultat:

Zigarrensorte	Menge in g	1 l Saugluft in wieviel Sek.	1 pro 1 Sek.	Gef. Blausäure in mg	Gef. Blausäure in %
La Flor solitaria	29	40—45"	1½	10,8	0,037
" " "	29	20—25"	3	34,8	0,12

d. h. es steigt der Blausäuregehalt im Rauch um das Dreifache — auf die höchste bisher beobachtete Höhe —, wenn die Ventilation der Zigarre verdoppelt wird.

XVII. Dieses wichtige Resultat wurde nun an einer ungarischen billigen Zigarre, von der uns ein größerer Vorrat zur Verfügung stand, methodisch nachgeprüft und, wie die folgende Tabelle zeigt, durchaus bestätigt gefunden. Es stieg hier die gebildete Blausäuremenge nicht ganz so schnell mit der Ventilation wie bei der vorigen Probe, doch entsprach auch hier der Zunahme der Ventilation von 1:2:4 eine Zunahme der Blausäure von annähernd 1:2:3. Bei der geringen Ventilation erhielten wir einen der niedrigsten, bei starker Ventilation wieder einen der höchsten Gehalte.

Angewandte Menge in g	11 Saugluft in wieviel Sek.	1 in 1 Min.	Gefundene Blausäure in mg	Gefundene Blausäure in ‰
45	40—45	1½	20	0,044
35	40—45		15,7	0,044
45	20	3	37,8	0,084
35	20		25,1	0,071
44	10	6	47,2	0,11
35	10		35,1	0,10

Auf eine genauere theoretische Erklärung müssen wir vorerst verzichten, offenbar sind die Bedingungen für die Blausäureentstehung günstiger bei heftig glühender als bei schwach brennender Zigarre, und nicht die Tabaksorte sondern die Luftzufuhr bedingt die hohe Zyanausbeute in erster Linie. Es braucht aber nicht ohne weiteres die hohe Temperatur die Zyanbildung besonders zu begünstigen, sondern wir denken auch an einen anderen Zusammenhang.

Wir haben in diesen Versuchen nebenbei öfters konstatiert, daß nun, wie Davidovics bei Liebermann (Hyg. Rundsch. 1908 Nr. 4) angegeben hat, beim raschen Rauchen auch wesentlich höhere Teermengen erhält als beim langsamen. Es macht den Eindruck, als ob bei starker Ventilation die Produkte der trockenen Destillation (Teer, Blausäure) rasch und unverbrannt dem Raucher zugeführt würden, bei langsamer Ventilation verbrennt wahrscheinlich das gebildete Zyan.¹⁾

XVIII. Von praktischem Interesse war nur die Frage, wie viel Blausäure bei dem normalen Verrauchen von Zigarren durch den Mund im Rauch enthalten sei.

Zur Beantwortung dieser Frage wurde folgender Versuch am Menschen gemacht.

6 Zigarren (billige ungarische Marke »Külföldi«), entsprechend 35 g Tabak, wurden so verraucht, daß auf jede Zigarre ½ Stunde verwendet wurde, daß also die 6 Zigarren in 3 Stunden verraucht waren. Zwischen Mund und Zigarre wurde ein Absorptionsapparat, bestehend aus drei hintereinandergeschalteten Waschflaschen, die mit saurem $n/10$ Ag NO₃ gefüllt waren, eingeschaltet

¹⁾ Ähnliches haben neuerdings auch Versuche mit Nikotinbestimmung ergeben, die in Bälde mitgeteilt werden sollen.

und so die Gesamtblausäure des Rauches bestimmt. Zwei unter gleichen Bedingungen angestellte Versuche ergaben befriedigend übereinstimmende Resultate, die hier angeführt werden mögen:

35 g Tabak ergaben einmal 9,4 mg Blausäure	= 0,026% ;
35 g Tabak ergaben das andere Mal 8,6 mg Blausäure	= 0,024% ;
im Mittel = 0,025%.	

Das heißt: Selbst bei kräftigem, schnellem, unverdrossenem Rauchen ist die gebildete bzw. die angesaugte Menge Blausäure noch erheblich kleiner als der Mindestgehalt in den Versuchen mit Verrauchen durch den Apparat. Dies kann zwei Gründe haben: entweder haben wir unter diesen Versuchsbedingungen einen erheblichen nicht untersuchten Nebenstrom, oder durch das intermittierende Rauchen ist die Blausäurebildung oder -Abfuhr ganz besonders schlecht.

XIX. Ein ganz gleicher Versuch wurde mit den als besonders stark Blausäure liefernd verdächtigen *Aguilas Imperiales*, den feinen österreichischen *Regie-Havanas*, gemacht. 2 Zigarren von 20 g lieferten durch Silberlösung vom Menschen geraucht (wozu 630 Züge zu 26 l Saugluft in 1 Stunde, also pro 1 Minute nur $\frac{1}{2}$ l nötig waren) nur 4 mg Blausäure, 100 g also 20 mg = 0,02 Prozent, eine ganz besonders niedrige Zahl, die aber sehr gut mit den Ergebnissen sub XVIII. zusammenstimmt und die sich vorzüglich vorne an die Tabelle sub XVII anreihen.

XX. Endlich war zu prüfen, wie vollständig die Blausäure von der Mundhöhle absorbiert wird. Aus dem Versuch sub. XVIII. wissen wir, daß pro 100 g Zigarren Kulföldi 25 mg Blausäure angesaugt werden. Es wurden nun drei Versuche so angeordnet, daß die Zigarren mit dem Mund geraucht, der Rauch aber in Silberlösung ausgeblasen wurde.

Angewandte Menge in g	Rauchzeit in Stunden	Berechnete Blausäure im eingeatmeten Rauch in mg	Blausäure im ausgeatmeten Rauch in mg	Vom Raucher absorbierte Blausäure in mg	Absorbierte Blausäure in %
35 (6 Zig.)	3	9	4,8	4,2	46,6
35 (6 Zig.)	3	9	3,8	5,2	57,6
35 (6 Zig.)	3	9	5,9	3,1	34,4

Die Absorption schwankte, wie aus der Tabelle ersichtlich, zwischen 34,4 und 57,6%, betrug im Mittel aus den drei Versuchen 46,2%.

Es nimmt also ein Raucher aus 6 Zigarren mittelbarer Größe und Schwere mit normalem Blausäurevermögen nur etwa 4 mg Blausäure auf, oder pro 1 Zigarre etwa 0,7 mg.

XXI. Es wurde auch der Blausäureabsorptionsversuch noch mit den als extrastark bezeichneten, großen und dicken Aguilas Imperiales, den feinen österreichischen Regiezigarren, gemacht. Die Versuchsperson — ein mittlerer Raucher — rauchte von 4.35 h bis 6.13 h mit 30 Min. Unterbrechung 2 Stück dieser je 10 g schweren Zigarren. Nachdem die Hälfte der ersten Zigarre geraucht war, begann leichtes Hitzegefühl, gegen das Ende der ersten Zigarre wurde notiert: Stärkeres Hitzegefühl, leichte Benommenheit, etwas Schläffheit der Beine, leichter Stirnschweiß, etwas später etwas Brechreiz, Abneigung gegen weiteres Rauchen. Der Puls war vor dem Rauchen 76 gewesen, er schwankte während des Rauchens von 82—86. Als nach 1/2 Stunde Pause die zweite Zigarre begonnen wurde, verstärkten sich die Symptome bald und kurz vor der Vollendung fand heftiges Erbrechen statt.

Die 2 Zigarren haben nach XIX. nur 4 mg Blausäure enthalten, in der ausgeblasenen Rauchluft waren 1,35, also sind 61 % von der geringen Blausäuremenge absorbiert.

Sicher kommt also die Giftigkeit dieser großen und schweren Zigarren nicht von ihrem Blausäuregehalt. Mengen von 2,65 mg sind sicher unschädlich.

XXII. Um über die Giftigkeit der Blausäure am eigenen Leibe Erfahrungen zu sammeln, haben wir mehrfach Blausäure in frisch titrierter, wässriger Lösung eingenommen. Weder 4 noch 6 noch 8 mg auf einmal in etwa 30 ccm Wasser genommen, hatten irgend welche Wirkung, von leichtem Halskratzen abgesehen. Damit ist auch direkt die Harmlosigkeit der Blausäure in kleinen Dosen bewiesen. Die deutsche Pharmakopöe gestattet, von Bittermandelwasser, das 1 mg in 1 ccm enthält, 0,5—2,0 Mg pro dosi und 6,0 Mg pro die zu geben, was nach unseren Erfahrungen sehr vorsichtig ist — eine Wirkung erwarten wir davon nicht.

XXIII. Die Konzentration der Blausäure in den Rauchgasen beträgt etwa — da 1 Zigarre in $\frac{1}{2}$ Stunde geraucht wurde und darin $\frac{9}{6} = 1,5$ mg Blausäure waren — $\frac{1,5}{15} \text{ l} = 0,1$ mg pro 1 l.

Tierversuche, die in Bälde ausführlicher mitgeteilt werden sollen, haben ergeben, daß selbst das Einathmen, geschweige denn das Rauchen solcher Quantitäten für Tiere ganz wirkungslos ist.

XXIV. Schließlich hatten wir noch die Hoffnung, es könnte vielleicht der Blausäuregehalt des Rauches wilder Blätter (Kastanien usw.) so groß sein, daß man ihn zu der noch immer nicht befriedigend gegebenen Erklärung der Wirkung dieses Rauches auf Kinder verwenden könnte. Zwei Versuche mit je 20 g Kastanienblättern, die mit dem Munde durch Silberlösung mit 50 Zügen in der Minute (10 Züge 0,5 l) gemacht wurde, ergab 0,031 und 0,033%. Die Zahlen sind zwar etwas höher als die für langsam gerauchten Tabak, aber um sie zur Erklärung der Kinderüblichkeiten bei den ersten Rauchversuchen zu verwenden, müßten Kinder extrem blausäureempfindlich sein. Die Empfindlichkeit soll in der Tat stärker sein als beim Erwachsenen, aber sie kann nicht extrem sein, denn blausäurehaltige Obstkerne essen Kinder vielfach ohne besondere Übligkeit in hinreichenden Mengen, um einige Milligramm Blausäure zuzuführen.

Die Hauptresultate der Arbeit sind:

1. Es liegt kein Grund vor, Dizyan im Tabakrauch anzunehmen.
2. Die Blausäure im Rauch wird am besten durch Absorption in saurer Silbernitratlösung bestimmt und aus dem Silbergehalt des gereinigten Niederschlags die Blausäure berechnet.
3. Der Blausäuregehalt des Rauches wird um so kleiner, je langsamer die Luft durch die Zigarre streicht. Minimalzahlen, die für verschiedene Zigarrensorten beim natürlichen Rauchen nicht stark zu schwanken scheinen (0,02 bis 0,03, vielleicht 0,04% des verrauchten Tabaks).
4. Von den kleinen dem Menschen so zugeführten Blausäuremengen werden etwa 46% absorbiert.

5. Die absoluten Blausäuremengen beim Genuß mehrerer — auch großer und starker — Zigarren sind so klein (3—4 mg), daß sie wirkungslos sind.
6. 6 und 8 mg Blausäure in ca. 50 ccm Wasser eingenommen, sind wirkungslos.
7. Der Blausäuregehalt des Rauches (0,1 mg pro 1 l Luft) ist so klein, daß er selbst eingeatmet nicht wirken würde.
8. Auch der Blausäuregehalt wilder Blätter ist klein und wohl sicher nicht von Belang zur Erklärung der Übligkeit jugendlicher Kastanienblätterraucher.

Das zu diesen Versuchen verwendete Zigarrenmaterial verdanken wir teils durch freundliche Übermittlung von Herrn Prof. Dr. Pick in Prag der k. k. österr. Tabak-Regie, teils Herrn J. Toth, Direktor der k. ungar. Tabak-Regie.

Über die Zunahme des Fettes in aufbewahrtem Weichkäse und Fleisch mit Rücksicht auf die Frage der Leichenwachsbildung.

Von

Dr. Harrie Schütze aus Melbourne,
bisheriger Assistent am Hygienischen Institut Würzburg.

(Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. April 1912.)

I. Allgemeine Fragestellung. Methodik.

Um die Fragen der Leichenwachsbildung und die Möglichkeit einer Entstehung von höheren Fettsäuren aus Eiweiß zu studieren, wurden Versuche, künstliches Adipocire zu erzeugen, angestellt und Versuche über die quantitativen Veränderungen der höheren Fettsäuren im Käse beim Aufbewahren angeschlossen.

Die Untersuchungen über Adipocire früherer Autoren sind hauptsächlich an natürlichem Material vorgenommen worden, an exhumierten Leichen oder solchen, die längere Zeit im Wasser gelegen sind. Sie beschränkten sich dann natürlich auf eine Feststellung der makroskopischen und mikroskopischen Lagerung und der chemischen Beschaffenheit des Adipocires.

Aus seinen mikroskopischen Studien, welche zeigten, wie stufenweise die Muskelfasern allmählich in die fettige Substanz übergingen, dachte K r a t t e¹⁾ sagen zu können, daß das Adipocire durch Eiweißumwandlungen in den Muskelfasern entstand.

Zillner²⁾ aber wies darauf hin, wie bei einem so langsam fortschreitenden Prozeß auch mikroskopisch nicht zwischen einer Fettwanderung aus fettreicheren Geweben des Körpers und einer Entstehung von neuem Fette auf der Stelle zu unterscheiden sei.

Leichenwachs ist schon von mehreren Forschern experimentell produziert worden, namentlich von Gibbes³⁾, Quain⁴⁾, Virchow⁵⁾, Kratter¹⁾, v. Hofmann⁶⁾ u. a., aber diese alle haben es unterlassen, chemisch zu untersuchen, ob während des Prozesses eine Fettvermehrung stattfindet oder nicht, um damit klar zu beweisen, ob das Leichenwachs neu gebildetes oder schon präformiertes Fett ist.

Gay-Lussac⁷⁾, Chevreul⁸⁾, Orfila und Lesueur⁹⁾, Secretan und Nencki¹⁰⁾ haben versucht, in entfettetem Material eine Fettbildung zu erzielen, aber ohne Erfolg.

Erst K. B. Lehmann¹¹⁾ und bald darauf E. Voit¹²⁾ nahmen gewöhnliches Fleisch, nur von makroskopischem Fett befreit, untersuchten einen Teil davon frisch und das übrige am Ende des Versuches und versuchten eine Vermehrung der höheren Fettsäuren in dem Fleisch, welches bei Lehmann in fließendem Wasser und bei Voit unter Kalkmilch aufbewahrt wurde, zu bekommen. Beide haben positive Resultate erzielt.

Es war meine Aufgabe, nochmals zu prüfen, ob und unter welchen Umständen und bis zu welchem Grade eine Vermehrung der nicht flüchtigen Fettsäuren zu erhalten war.

Die Methoden zur Bestimmung der höheren Fettsäuren lassen sich in die folgenden Gruppen einteilen.

1. Methoden, die auf der Gewinnung möglichst großer Ätherextrakte beruhen:

a) Pflüger-Dormeyer¹³⁾: Ätherextraktion nach Pepsinverdauung des Eiweißes.

b) Rosenfeld¹⁴⁾: Zuerst Alkohol-, dann Chloroformextraktion, mit Aufnahme der getrockneten Extrakte in Petroläther.

2. Methoden, die auf alleiniger Gewinnung der höheren Fettsäuren beruhen.

8**

I. Verseifung von Ätherextrakten.

a) **B o g d a n o w**¹⁵⁾: Das Material, bei 100° getrocknet, wird mit Äther einige Tage ausgezogen. Die erhaltenen Extrakte werden dann erst mit Alkali, nachher mit Säure behandelt und die durch diese Spaltung erhaltenen freien Fettsäuren mit Ba(OH)₂ titriert.

II. Direkte Verseifung der Organe.

a) **L i e b e r m a n n** und **S z e k e l y**¹⁶⁾: In einem Kolben von bestimmter Form und Größe wird die Substanz mit KOH gekocht, nachdem mit Alkohol und H₂SO₄ versetzt und dann nach Zugabe von Petroläther längere Zeit geschüttelt. Von dem an der Oberfläche sich sammelnden Petroläther nimmt man einen aliquoten Teil, titriert mit KOH, wiegt nach Verdunstung die entstandene Seife und bestimmt dadurch die Fette bzw. Fettsäuren.

b) **K u m a g a w a** und **S u t o**¹⁷⁾: Man kocht die zu untersuchende Substanz mit NaOH, so daß eine vollständige Spaltung der Eiweißkörper und eine Verseifung der Fette stattfindet, dann spaltet man die Seifen mit Salzsäure. Die frei gewordenen Fettsäuren werden mit Äther aufgenommen und nach Verdunstung in Petroläther gelöst, welcher nur die höheren Fettsäuren löst. Nach Verdunstung des Petroläthers können die höheren Fettsäuren gewogen werden. In vergleichenden Versuchen fanden **K u m a g a w a** und **S u t o**, daß mit den anderen Methoden ca. 10% der nicht flüchtigen Fettsäuren der Bestimmung entgehen, währenddem bei **L i e b e r m a n n** die niederen Fettsäuren und bei **D o r m e y e r**, **R o s e n f e l d** und **B o g d a n o w** bis 40% Verunreinigungen mit bestimmt werden.

Wegen der Bequemlichkeit und trefflichen kritischen Durcharbeitung der Methode habe ich nach **K u m a g a w a** und **S u t o** die Fettsäuren bestimmt. Aber da ich einige kleine Veränderungen daran vorgenommen habe, werde ich den Verlauf eines Versuches kurz beschreiben.

1. Kochen der Substanz mit NaOH (20%) (für größere Fleischproben von 80 g wurden 50 ccm, für kleinere 25 ccm genommen) auf dem Wasserbade in einer von Dampf durchströmten, tubulierten Glasglocke, wie K. u. S. empfehlen, über Nacht, d. h. ca. 14 Stunden.

2. Spaltung in einem Scheidetrichter mit HCl (spez. Gew. 1,11), wovon 60 ccm bzw. 30 ccm nötig sind.

3. Nachdem der Scheidetrichter mit Inhalt unter Wasser abgekühlt war, wurden ca. 100 ccm Äther zugegeben, tüchtig geschüttelt und nach Trennung in zwei Schichten, was meist rasch, selten langsam eintrat, die untere wässrige Schicht abgelassen, wobei Niederschlag und Äther zurückgelassen wurden. Der Äther wurde nun in ein Becherglas abgegossen, der Niederschlag ein paarmal mit Äther nachgewaschen. Die Ätherextrakte wurden vereinigt und im Becherglas im Wasserbad bei ca. 50° verdunstet, unter Mithilfe eines Elektroventilators. Der Rückstand wird mit Äther nochmals aufgenommen und durch ein Asbestfilter filtriert. Im zweiten Becherglas wird wieder bei 50° und unter Ventilation verdunstet und das Glas noch zwei Stunden lang zur vollständigen Trocknung auf dem Wasserbad gelassen. Dann wurde mit 30 ccm Petroläther gelöst und $\frac{1}{2}$ Stunde im Zimmer stehen gelassen, bis die unlöslichen Substanzen sich an die Glaswand festgesetzt hatten. Dann wurde abgegossen, mit Petroläther mehrmals nachgespült, durch ein Asbestfilter filtriert und das Filtrat in ein gewogenes Becherglas gebracht und bei 50° unter dem Ventilator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden war dies meist der Fall. Die Zunahme des Becherglasgewichts gibt die höheren Fettsäuren.

Der in dem Scheidetrichter zurückgebliebene Niederschlag wird jetzt wieder mit NaOH über Nacht gekocht und die Methode ganz wie vorher durchgeführt. Diese zweite Extraktmenge ist meistens so klein im Verhältnis zu der ersten, daß man schließen darf, alle Fettsäuren seien jetzt vollständig extrahiert.

Ich weiche bei dieser Ausführung der Methode absichtlich dadurch von K u m a g a w a und S u t o ab, daß ich das Auskochen bzw. Auflösen der organischen Substanz sofort viel länger (ca. 14 Stunden) vornahm und sogar zweimal in gleicher Gründlichkeit, während die japanischen Autoren das erstemal zwei Stunden mit NaHO kochen lassen und zum zweitenmal nur kurze Zeit mit kaltem NaOH arbeiten. Für Käse ist dieses umständlichere, von mir eingeführte Verfahren geradezu notwendig; nach dem

japanischen Originalverfahren erhält man nur ganz unvollständige Extraktionen.

Eine genaue analytische Untersuchung der gefundenen Fettsäuren war wegen geringer Materialmenge nicht möglich, nur auf die Menge der Ölsäure ließ sich durch die Ermittlung der Jodzahl schließen, deshalb wurde in den späteren Versuchen in den gewonnenen Fettsäuren die Hüblsche Jodzahl bestimmt.

Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen.

Versuche I und II.

Für den ersten Versuch über Fettbildung wurde Pferdeleber und Muskelfleisch verwendet, und zwar klein gehackt, zu einer homogenen Masse gerührt; die Leber wurde von den groben Gallengängen befreit. Die Proben von Leber und Fleisch zu 20 g wurden in verschiedener Weise aufbewahrt, z. B. unter Toluolwasser, welches von Zeit zu Zeit nachgefüllt wurde. Diese Proben blieben nicht steril, wie beabsichtigt war; sie verfaulten geradeso wie diejenigen Proben, die einfach in Wasser aufgehoben wurden. Beide Serien wurden doppelt aufgestellt, einmal bei 37°, zweitens im Keller zwischen 10° bis 15°.

Andere Proben wurden einfach im Keller im Eisschrank aufbewahrt und weitere in Lehm gebettet bei 10° bis 15°. Nach bestimmten Zeiten wurden die Proben untersucht, wobei bei denen, welche unter Flüssigkeiten lagen, diese Flüssigkeiten auch auf Fettsäure untersucht wurden.

In der Tabelle I und II sieht man, daß anfangs eine Zunahme der Fettsäuren bei der Fäulnis stattfindet, und daß die übereinstimmenden Ergebnisse der mehrfachen Bestimmungen in der frischen Substanz beweisen, daß die Extraktionsmethode genügend genaue Resultate gibt.

Da die mit Toluol angestellten Proben doch nicht steril blieben, sind die verschiedenen Versuchsanordnungen alle mehr oder minder als Fäulnisversuche anzusehen.

Auf 100 g Trockensubstanz des Originalmaterials kommen Zunahmen der höheren Fettsäuren bis zu fast 2,0 g.

Daß diese Zunahme keine konstante ist und sogar manchmal ausbleibt, kann wohl nur darauf beruhen, daß die Prozesse bei der Fäulnis nicht immer gleich ablaufen.

Ebenso deutlich wie die Zunahmen sind die Abnahmen, welche später in dem Versuchsverlauf zu beobachten sind; in den Proben, die einfach im Gefäß ohne Flüssigkeit erst 5 Monate im

Tabelle I und II.

Versuch	Art des Versuchs	Dauer des Versuchs	Gewicht des benutzten Materials g	In 100 g Trockensubstanz gefundene Fettsäuren	Durchschnittliche Menge der Fettsäuren in 100 g Trockensubstanz	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g
I	Pferdeleber, gehackt	Frisch untersucht	20	12,02; 11,70; 11,95; 11,81	11,87	
	Unter Toluolwasser bei 10°—15°	Nach 3 Monaten	20	12,87; 14,75; 12,93; 12,62	13,29	+ 1,42
	„ „ „ 10°—15°	„ 4 „	20	12,42	12,42	+ 0,55
	„ „ „ 37°	„ 3 „	20	11,05; 12,55	11,80	— 0,07
	Im Wasser gefault bei 37°	„ 3 „	20	12,48; 12,66; 13,63; 12,09	12,71	+ 0,84
	„ „ „ 37°	„ 4 „	20	12,04; 14,44	13,24	+ 1,37
	Im Eisschrank	„ 5 „	20	12,08; 12,14	12,11	+ 0,24
	„ „ später im Zimmer 5 Mon. im Eisschrank 6 Mon. im Zimmer ca. 18°	„ „	20	10,01	10,01	— 1,86
II	Pferdefleisch, gehackt	Frisch untersucht	20	12,6; 12,59; 12,69; 12,51	12,60	
	Unter Toluolwasser bei 10°—15°	Nach 2 1/2 Monaten	20	12,29; 12,87	12,58	— 0,02
	„ „ „ 37°	„ 2 1/2 „	20	12,80	12,80	+ 0,20
	Im Wasser gefault bei 10°—15°	„ 2 1/2 „	20	11,75; 10,96	11,35	— 0,25
	„ „ „ 37°	„ 2 1/2 „	20	14,21; 14,97	14,59	+ 1,99
	„ Eisschrank	„ 5 „	20	11,9; 12,7	12,30	— 0,30
	„ „ später im Zimmer 5 Mon. im Eisschrank 6 Mon. im Zimmer ca. 18°	„ „	20	8,59	8,59	— 4,01
	In Lehm gebettet bei 10°—15°	Nach 4 Monaten	20	12,70	12,70	+ 0,10

Eisschrank und nachher 6 Monate im Zimmer aufbewahrt wurden, waren Abnahmen von 1,8 g und 4,0 g pro 100 g Originaltrockensubstanz zu konstatieren.

Verglichen mit den Resultaten von K. B. L e h m a n n und V o i t, nehmen meine einen Mittelplatz zwischen denen dieser beiden Forscher ein. L e h m a n n bekam aus 135 g frischem Muskel eine Zunahme von 3,514 g nicht flüchtigen Fettsäuren, V o i t aus 225 g Muskel 0,861 g. Nimmt man an, daß das Fleisch in beiden Fällen 75% Wasser enthielt, so zeigt sich, auf Trockensubstanz berechnet, eine Zunahme pro 100 g trockenen Materials bei L e h m a n n von 10,5 g, bei V o i t von 1,53 g Fett.

V e r s u c h III.

Um den Versuch von L e h m a n n, welcher unter fließendem Wasser stattfand, genauer nachzumachen, wurde gehacktes homogenes Fleisch in Leinwandbeuteln unter strömendem Wasser bei ca. 10° und bei ca. 28° aufbewahrt und nach verschiedenen Zeiten untersucht. Es wurde nicht unterlassen, das Tuch auch für sich zu extrahieren. Dieses wurde in allen folgenden Versuchen getan. Ich bekam daraus immer nur ganz minimale Fettmassen. Daß der Beutelinhalt weniger geworden war, war deutlich beim Herausnehmen aus dem Wasser zu bemerken. Die Fettbestimmungen (s. Tab. III) ergaben dieses Mal eine Abnahme der höheren Säuren, welche mit der Zeit größer wurden.

V e r s u c h IV.

In dem Gedanken, daß das Tuch ungenügend Schutz gegen mechanischen Verlust von Fett und Fettsäuren gebe, wurde Pergamentpapier nochmals um das Tuch herumgegeben und der Versuch mit Wasser von ca. 10° wiederholt. Wie im Versuch III blieb im Sack ein verminderter, schmieriger Rest, aus dem B. fluorescens und B. vulgare leicht zu züchten waren. Nach einem Monat hatten schon die Säuren ein wenig abgenommen; nach 10½ Monaten schwoll diese Abnahme bis auf 4,2 g pro 100 g Originaltrockensubstanz an.

Um diese Zeit wurde ein Versuch gemacht, Fleischproben vom Kaninchen steril zu entnehmen und in sterilem Wasser aufzubewahren.

V e r s u c h V.

Einem Kaninchen wurde das Genick gebrochen. Die Haare am Bein wurden abgesengt und die Haut mit Sublimat nachgewaschen. Dann wurde mit sterilem Messer die Haut durchschnitten und mit einem frisch sterilisierten Messer und Pinzette zwei Stückchen aus dem Quadriceps femoris geschnitten; eines davon wurde in ein Glasgefäß mit sterilem Wasser gelegt, mit Wattepfropf verschlossen und hierin gewogen. Das andere Stück Muskel wurde sofort

Tabelle III und IV.

Ver- such	Art des Versuchs	Dauer des Versuchs	Gewicht des benutzten Materials g	In 100 g Trockensubstanz gefundene Fettsäuren	Durchschnittliche Menge der Fettsäuren in 100 g Trockensubstanz	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Trockensubstanz
III	Pferdefleisch, gehackt In Leinwandbeutel in strömendem Wasser	ca. 10°	20	4,41; 4,41; 4,46	4,33	
		ca. 10°	20	4,14; 4,00	4,07	- 0,26
		ca. 28°	20	3,84	3,84	- 0,49
IV	Pferdefleisch, gehackt In Pergament und Leinwand in strömendem Wasser ca. 10°	ca. 10°	20	3,94; 3,67	3,80	- 0,53
		ca. 28°	20	6,97; 7,04; 7,43; 6,97	7,10	- 0,61
		ca. 10°	20	6,57; 6,42	6,49	- 1,03
		10 ¹ / ₂	20	6,30; 5,84	6,07	- 4,25

Tabelle V.

Ver- such	Art des Versuchs	Dauer des Versuchs	Gewicht des benutzten Materials g	In 100 g Trockensubstanz gefundene Fettsäuren	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Trockensubstanz
V	Kaninchenmuskel vom rechten Bein Unter Wasser. Nur Kokken anwesend. Gefäß I Kaninchenmuskel vom linken Bein Unter Wasser. Nur Kokken anwesend. Gefäß II	Frisch untersucht	3,35	2,64	
		Nach 6 Monaten	6,85	2,36	- 0,28
		Frisch untersucht	5,15	2,84	
		Nach 6 Monaten	3,45	2,78	- 0,06

auf Fettsäuren untersucht. Es wurden auch Wasserbestimmungen im Fleisch aus dem Quadriceps gemacht. In gleicher Weise wurde am anderen Bein vorgegangen. Die zwei Gefäße mit sterilem Wasser und je einem Stückchen Kaninchenmuskel blieben nun sechs Monate lang im Zimmer stehen. Nach einem Monat war das Wasser im Gefäß I, welches Muskel vom rechten Bein enthielt, noch klar; nur an der Glaswand unten war ein leichter Niederschlag zu erkennen. Gefäß II war unverändert. Nach zwei Monaten war der Niederschlag etwas deutlicher im Gefäß I; im Gefäß II waren jetzt auch Spuren davon zu sehen. Nach sechs Monaten war im Gefäß I das Wasser ein wenig trüb, der Niederschlag an der Glaswand reichte bis oben hinauf. Das Fleischstück war deutlich gelblich geworden; beim Herausnehmen fühlte sich das Fleisch nicht deutlich anders an als wie frisch.

Gefäß II enthielt klares Wasser; der Niederschlag an der Glaswand war weniger wie bei I; das Muskelstück war auch etwas gelblich verfärbt, sonst augenscheinlich unverändert. Die bakteriologische Untersuchung ergab die Anwesenheit von einem grampositiven Kokkus in beiden Gefäßen.

Tab. V zeigt, daß nach dem langen Aufbewahren bei geringer Bakterienentwicklung der Fettsäuregehalt ungefähr der gleiche geblieben ist.

Um in den Versuchen unter strömendem Wasser den Anordnungen L e h m a n n s noch näher zu kommen und den einzigen Unterschied, außer dem Ursprung des Wassers (welches bei L e h m a n n von der Münchener und bei mir von der Würzburger Leitung stammte), zwischen unseren Versuchen zu beseitigen, wurde die Verwendung von gehacktem Fleisch, welches von mir seiner Homogenität wegen benutzt wurde, aufgegeben und in Versuch VI, VII und VIII ungehacktes, welches auf Freiheit von makroskopischem Fette untersucht wurde¹⁾, gebraucht; auch wurden größere Proben genommen, und zwar solche von 80 g Gewicht. In den Versuchen VI und VII wurde das Fleisch in Tuchbeuteln, in Versuch VIII in Bechergläsern, deren Mündung mit Leinwand zugebunden war, aufbewahrt.

Die Proben des Versuches wurden so untersucht, daß das Tuch, womit das Becherglas zugebunden war, die Flüssigkeit, welche das Becherglas füllte, und der Fleischrest, welcher immer eine Art dicken, breiigen Niederschlags im Becherglas bildete und aus kleinen,

1) Ich machte das geradeso wie L e h m a n n seinerzeit: Ich überzeugte mich durch das sehr leicht zu bewerkstelligende Auseinanderziehen der Muskelbündel des stets verwendeten Pferdefiletflisches von der Abwesenheit sichtbarer Fettmengen im intermuskulösen Bindegewebe.

Tabelle VI, VII und VIII.

Ver- such	Art des Versuchs	Dauer des Versuchs	Gewicht des benutzten Materials g	In 100 g Trockensubstanz gefundene Fettsäuren	Durchschnittliche Menge der Fettsäuren in 100 g Trockensubstanz	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Trockensubstanz
VI	Ungehacktes Fleisch In Leinwandbeutel im strömenden Wasser ca. 10°	Frisch untersucht	80	6,22; 4,36; 5,47; 6,89	5,73	
		Nach 8 Monaten	80	6,39 (Durchschn. von 4 Proben, die zusammen bestimmt wurden)	6,39	+ 0,66
VII	Ungehacktes Fleisch In Leinwandbeutel im strömenden Wasser ca. 10°	Frisch untersucht	80	5,04; 5,82; 6,15	5,67	
		Nach 6 Monaten	80	8,6; 12,5	10,55	+ 4,88
		„ 7 ¹ / ₂ „	80	6,3; 9,9	8,10	+ 2,43
VIII	Ungehacktes Fleisch In Becherglas, dessen Mund mit Tuch zugebunden war, in strömendem Wasser ca. 10°	Frisch untersucht	80	7,16; 6,95; 6,45; 6,11	6,67	
		Nach 6 Monaten	80	8,87	8,87	+ 2,20
		„ 9 „	80	6,56	6,56	- 0,11
		„ 11 „	80	5,81	5,81	- 0,86

Archiv für Hygiene. Bd. LXXVI.

9

schmierigen, gelblichen Brocken bestand, getrennt blieben. Im Tuch und in der Flüssigkeit waren, wie immer, nur Spuren von Fettsäuren zu extrahieren.

Da jetzt nicht mehr gehacktes und durcheinander gerührtes Fleisch verwendet wurde, zeigten die Bestimmungen in dem frischen Muskelfleisch weniger scharf übereinstimmende Zahlen; aber die Änderungen während des Aufbewahrens waren besonders deutlich. Man konnte aus ihnen sehen, wie anfangs Fettsäuren gebildet und später wieder zerstört werden.

Im Versuche VI zerrissen die Beutel beim Herausnehmen, so daß der Inhalt aller vier zusammen bestimmt werden mußte und nur eine Durchschnittszahl zu bekommen war. Eine kleine Vermehrung wurde beobachtet, da aber erst nach 8 Monaten untersucht wurde, waren möglicherweise zu einer früheren Zeit mehr Fettsäuren vorhanden.

Im Versuch VII wurden nach 6 Monaten Aufbewahrung 4,88 g Fettsäuren pro 100 g Trockensubstanz als Zunahme gefunden. Dieses ist die größte Zunahme, die ich in meinen Versuchen gefunden habe, und sie ist eine Annäherung an die 10,5 g, welche L e h m a n n bekommen hat.

Versuch VIII zeigt anfangs eine gewöhnliche Zunahme und später besonders gut, wie die Fettsäuremenge wieder abnimmt.

Zusammenfassung der Versuche mit Fleisch.

In den Versuchsreihen I—VIII sieht man, daß eine Fettvermehrung in faulem Fleisch auftreten kann, daß sie aber wegen ihrer Kleinheit wohl nur eine Nebenrolle bei der Leichenwachsbildung spielt, wenn nicht unter anderen Verhältnissen, z. B. wenn ganze Leichen dem Prozeß ausgesetzt werden, eine stärkere Fettbildung stattfinden sollte. Doch ist es mir wahrscheinlicher, daß die großen Fettmengen der Leichenwachseleichen in allererster Linie aus dem präformierten Fett entstammen, ist es doch eine unbestrittene Tatsache, daß fette Leichen viel leichter Leichenwachsbildung zeigen als andere.

Ob die Ursache dieser bei der Fäulnis stattgefundenen Fettbildung in Bakterien- oder Fermenttätigkeiten zu suchen ist,

ist nicht durch meine Versuche zu entscheiden. Die Versuche mit fast steril aufbewahrten Muskelstücken, wo nur einige Kokken zum Wachstum kamen und eine Fettbildung ausblieb, scheint auf die Notwendigkeit der Anwesenheit von Bakterien bei dem Prozeß zu deuten. Dieser Versuch entspricht in seinem Resultat denen von Ohta¹⁸⁾ und Shibata¹⁹⁾, welche Organe und Muskelstücke unter Chloroformwasser 40—100 Tage lang bei Zimmer- und Brutschranktemperatur autolysierten, ohne daß eine Zunahme der höheren Fettsäuren stattfand.

Daß Voit¹²⁾ in Muskeln, die er unter Kalkmilch aufbewahrte, auch eine Fettvermehrung konstatieren konnte, spricht nicht gegen diese Annahme, denn, wie ich mich in verschiedenen besonderen Versuchen überzeugte, entwickeln sich im Innern eines Fleischstückes, welches unter Kalkmilch getaucht ist, Bakterien.¹⁾ Erst sehr allmählich dringt die Kalkflüssigkeit in das Fleisch hinein. Voits Annahme, daß das Aufbewahren unter Kalkmilch die Bakterientätigkeit ausschließt, ist irrtümlich.

Auch Borri's²⁰⁾ Behauptung, daß er unter Ausschließung der Wirkung der Bakterien eine Fettsäurevermehrung erzielte, verliert seine Beweiskraft, da er nach Voit seine Fleischstücke unter Kalkmilch hielt, in dem falschen Glauben, daß dadurch ein aseptischer Zustand geschaffen wurde. Überhaupt ist die Genauigkeit seiner Resultate (5,3 g Zunahme der höheren Fettsäuren pro 100 g trockene Muskelsubstanz) nicht sehr groß, denn der Fettsäuregehalt seines frischen Muskels wurde nicht bestimmt, und er begnügte sich mit der Durchschnittszahl für normales Muskelfleisch!

Die Zahlen für normales Pferdefleisch, die meine verschiedenen Versuche ergaben (12,6; 4,33; 7,1; 5,73; 5,67; 6,67), zeigen, wie wenig man sich auf die Durchschnittszahl bei solchen Versuchen verlassen kann.

1) Ich nahm Fleischstücke von der Größe wie Voit sie benutzte, tauchte sie unter frisch bereitete Kalkmilch und konnte zeigen, daß nach einigen Tagen im Innern Bakterien in Mengen zu demonstrieren waren. Die Kalkmilch hatte nur auf die äußerste Peripherie des Stückes gewirkt, und diese weiße, durch Kalkverbindungen härter gewordene Zone schritt nur sehr langsam weiter.

Bei den letzten Untersuchungen im Versuch VIII wurden die Jodzahlen der Fettsäuren bestimmt. Diese Hühlsche Jodzahl wurde nach der Methode, wie sie in Lehmanns Methoden der praktischen Hygiene angegeben wird, bestimmt.

Sie war in dem Fleisch, welches 6 Monate aufbewahrt wurde, 50,6, in den 9 Monate alten Proben 27,4, in den 11 Monate alten 27,8.

Aus diesem Sinken der Jodzahl sieht man, daß die ungesättigten Säuren allmählich weniger wurden. Eine ähnliche Abnahme werden wir später in den Versuchen mit Käse auch konstatieren können.

Dies kann sowohl durch mechanisches Entfernen der Ölsäure, welche bei der Versuchstemperatur flüssig ist, bedingt sein, teilweise auch durch eine schnellere Zerstörung der ungesättigten als der gesättigten Säuren durch Mikroorganismen oder endlich durch Wasserstoffeintritt (Reduktion) in die ungesättigten Säuren — ein Prozeß, der recht wohl zu den Fäulnisprozessen passen würde. Die Wasserstoffmenge, welche die Ölsäure eines Fettgemisches aufnehmen kann, genügt übrigens nicht, um das Gewicht der Ölsäure nennenswert zu erhöhen. Eher könnte man daran denken, daß die ganze Fettvermehrung auf einer Bildung von Oxyfettsäuren beruhte — was aber bisher weder ich noch ein anderer untersucht hat.

Versuche mit reifendem Käse.

Über die Frage, ob bei dem Reifen des Käses Fett gebildet wird oder nicht, ist viel gestritten worden.

Nach Blondeaus²¹⁾ Angaben fände eine beträchtliche Vermehrung statt. Dem wurde von Brassier²²⁾ widersprochen, ebenso von Nadina Sieber²³⁾ bei Nencki. Sie bewies, daß Blondeau in seinen Versuchen ungenaue Wasserbestimmungen gemacht und auch übersehen habe, daß der Roquefortkäse, womit er seine Arbeit ausführte, während der Aufbewahrung einer Eiweißspaltung mit Verflüchtigung der Spaltprodukte unterliegt. Wenn nach einer Zeit wieder untersucht wurde, ist allerdings der Fettgehalt ein höherer, da sich aber die Substanzmenge vermindert, ist von einer absoluten Fettzunahme keine Rede; viel-

mehr war die Fettsäuremenge ungefähr die gleiche wie am Anfang. Genauer als so konnte sie sich nicht ausdrücken, denn da bei jeder Untersuchung ein anderer Käse herangezogen wurde, mit sicherlich von Anfang an etwas anderem Fettgehalt, so konnten etwaige kleine Zunahmen oder Abnahmen nicht bewiesen werden. Man muß aber als durch N. Sieber für bewiesen ansehen, daß große Vermehrungen, wie sie Blondeau behauptet hatte, ausgeschlossen sind.

Später hat Jacobsta²⁴⁾ in aufbewahrtem Käse kleine Vermehrungen der höheren Fettsäuren konstatieren können. Er extrahierte die Fette und Fettsäuren durch Ausschütteln mit Äther, nach vorhergehender Trocknung oder Entwässerung mit Alkohol, und bekam nach Aufbewahrung von 50 g Quarkkäse für 14 Tage eine Zunahme der höheren Fettsäuren von über 0,5 g.

In einer Arbeit über die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen beschäftigte sich Laxa²⁵⁾ auch mit der Entstehung der nicht flüchtigen Fettsäuren im Käse und kam zu dem Schluß, daß sie hauptsächlich der Spaltung des Fettes zugeschrieben werden kann, daß aber eine geringe Zunahme der höheren Fettsäuren infolge der Tätigkeit von *Oidium lactis* und *Penicillium* zustande kommt. Er impfte eine Kaseinemulsion mit *Oidium* oder *Penicillium* und nach 2 oder 3 Monaten extrahierte er mit Äther und fand in allen Fällen eine kleine Vermehrung der nicht flüchtigen Fettsäuren. Die neu gebildeten Säuren waren in dem *Penicillium*-versuch, wo man die Kultur und die Flüssigkeit, auf der sie lag, trennen konnte, in der Kulturmasse zu finden und nicht in der Nahrungsflüssigkeit, woraus zu schließen ist, daß die Fettsäuren innerhalb der Schimmelzellen entstehen.

Seine Resultate sind nicht einwandfrei, denn es ist sehr fraglich, ob eine einfache Ätherextraktion, wie er sie anwendet, alle Fette aus dem Kasein ausziehen kann, was er ja selbst zugibt, so daß später unter Wirkung des Schimmels, wenn das Kasein aufgelöst wird, das Fett vielleicht leichter frei und in Fettsäure gespalten wird, dadurch eine Bildung der Säure vortäuschend. Ich habe mit Kumagawa und Sutos Methode der direkten Verseifung, gleichfalls mit Quarkkäse arbeitend, diese Resultate

9**

nachgeprüft und weiter versucht, zu beweisen, durch welches Agens die Vermehrung der Säuren hervorgerufen wurde. Zur Verwendung kam immer frisch bezogener Quarkkäse¹⁾, welcher, nachdem er gut durchgemischt, in 5 g-Portionen abgewogen und meistens in Petrischalen aufgehoben wurde. Es wurden Proben normal bei Zimmer- und Kellertemperatur aufbewahrt, andere unter Toluol, gleichfalls bei verschiedenen Temperaturen, auch wurden Proben sterilisiert und dann mit verschiedenen Bakterien- und Schimmelarten geimpft.

Der normal aufgehobene Käse zeigte schon nach ein paar Tagen eine leichte, weiße Flaumbedeckung, charakteristischer Käsegeruch trat auf und allmählich wurde der Käse in eine dickflüssige Masse verwandelt.

Unter Toluol gehaltene, unsterilisierte Proben veränderten ihr Aussehen nicht. Ebenso zeigten sterilisierte, mit Bakterien geimpfte und im Zimmer aufbewahrte Quarkportionen keine deutlich sichtbar veränderten Eigenschaften. Anders die sterilisierten Proben, die mit *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum* und *Botrytis cinerea* geimpft waren; diese wurden weich, halbflüssig und zeigten Käsegeruch. In dem Käse, welcher für die verschiedenen Versuche benutzt wurde, schwankte der Gehalt an nicht flüchtigen Fettsäuren pro 100 g frischen Käses von 0,778 bis 2,058 g.

Tab. IX gibt den Fettsäuregehalt des frischen Käses und ihre Jodzahlen in allen vier Versuchen.

In den folgenden Tab. X, XI und XII werden nur die Veränderungen der Fettsäuremengen bzw. Jodzahlen angegeben, so daß alle Bestimmungen miteinander verglichen werden können. Durch Heranziehen von Tab. IX kann man natürlich die wirklich gefundenen Fettsäuremengen in jeder Bestimmung leicht ausrechnen. Die Bestimmungen in den Tab. X, XI und XII werden aus den verschiedenen Versuchen zusammengruppiert, je nach ihrer Art und nach der Länge des Aufbewahrens eingereiht.

1) Quarkkäse heißt das frische Milchsäurefällungsprodukt aus entfetteter Milch, das mit einem Wassergehalt von ca. 80% zu kleinen Kuchen geformt in den Handel kommt und meist in diesem frischen (ungereiften) Zustand verzehrt wird.

Tabelle IX.

Ver- such	Datum des Versuchs	Höhere Fettsäuren in 100 g ¹⁾ frischem Quarkkäse		Hühl'sche Jodzahl der extrahierten Fettsäuren	
		Ergebnisse der einzelnen Versuche	Durch- schnitts- zahl	Einzelne Bestimmungen	Durch- schnitts- Jodzahl
I	28. Januar	0,957; 0,963; 0,978; 0,941	0,9598		
II	3. Mai	2,065; 2,089; 2,411; 1,913; 2,086; 2,086	2,0584	37,45; 36,9; 36,6; 37,2	37,04
III	23. Juni	0,774; 0,785; 0,762; 0,792	0,7782	45,2; 45,0; 45,4; 42,9	44,6
IV	8. August	1,837; 1,816	1,8264	42,5; 42,6	42,55

Über die Jodzahlen ist zu bemerken, daß sie am Anfang nicht bestimmt wurden, so daß in Versuch I nur die letzten zwei Proben auch in dieser Richtung untersucht wurden.

Betrachtung der Zahlen in den Tabellen ergibt:

Aus Tab. X ist klar, daß beim Aufbewahren von Quarkkäse eine kleine, langsame Vermehrung der höheren Fettsäuren stattfindet, und zwar verschieden bei verschiedenen Temperaturen. Im I. Versuch, welcher im Januar stattfand, war die Zunahme rascher im Zimmer wie in III. und IV. Versuchen, die in den dieses Jahr besonders warmen Monaten Juni und August ausgeführt wurden. Im letzteren Monat gab eine Probe, die im kühleren Keller aufgehoben wurde, dagegen eine ganz gute Zunahme.

Frischer Käse unter fließendem Wasser bei 10° zeigte nach 3 Monaten eine ganz geringe Zunahme der Säuren.

Es scheint ein Optimum zu geben, welches um 15° herum liegen könnte. Nach einer gewissen Zeit (im I. Versuch nach 3 Monaten) fangen die Fettsäuren an, weniger zu werden.

Aus Tab. XI: Frischer Käse unter Toluol gehalten zeigt Ähnliches, nur in viel kleinerem Maße.

Um zu prüfen, ob Mikroorganismen an diesem Zuwachs von Fettsäuren schuld waren, wurden sterilisierte Proben von Quarkkäse mit *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum*, einem *Botrytis*,

¹⁾ Alle Versuche dieses Abschnittes sind mit 50 g angestellt, der Übersichtlichkeit wegen aber für 100 g mitgeteilt.

Tabelle X.

Käse, in Petrischalen aufbewahrt	Zeit bis zur Fettsäurebestimmung	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Käse	Veränderung der Jodzahl	Nummer des Käses (s. Tab. IX) mit welchem der Versuch angesetzt wurde	Bemerkungen
Im Zimmer	9 Tage	+ 0,1672		I	
„ „	9 „	+ 0,1612		I	
„ „	14 „	+ 0,3414	— 15,6	III	
„ „	14 „	+ 0,3646	— 4,2	IV	
„ Keller	14 „	+ 0,4796	— 12,3	IV	
„ Zimmer	16 „	+ 0,3992		I	
„ „	16 „	+ 0,4252		I	
„ „	23 „	+ 0,5202		I	
„ „	23 „	+ 0,5272		I	
„ „	27 „	+ 0,3934	— 17,8	III	
„ Keller	2 Monate	+ 0,5334	— 15,25	IV	
„ Zimmer	3 „	+ 0,6812		I	
„ „	5 „	+ 0,3632	Jodzahl — 39,1	I	Hier wurde z. 1. Male bei Versuch I eine Jodzahl bestimmt
„ „	9 „	+ 0,5232	Jodzahl — 29,9	I	
Unter Wasser ca. 10°	3 „	+ 0,0172		I	Der Käse wurde hier im Becherglas, dessen Mund m. Leinwand zugebunden war, gestellt; das Ganze dann unter strömendem Wasser von ca. 10° aufbewahrt.

B. coli, *B. acidi lactici* und *St. acidi lactici*, welche alle aus Quarkkäse isoliert wurden, geimpft. Unter dem Einfluß von *Oidium lactis* wurde niemals eine Vermehrung von Fettsäuren erzielt, sondern recht bald eine Verminderung. *Penicillium* und *Botrytis* riefen eine kleine Zunahme hervor, die aber schon nach 17 Tagen auffallend im Abnehmen begriffen war.

Die Bakterien verursachten ähnliche Vermehrungen mit wahrscheinlich einer nachträglichen Verminderung.

Steriler Käse, mit einem Stückchen alten Käse geimpft, zeigte nach 26 Tagen kaum eine größere Zunahme wie die Proben, mit Schimmel oder Bakterien geimpft.

Tabelle XI.

Käse unter Toluol aufbewahrt	Zeit bis zur Fettsäurebestimmung	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Käse	Veränderung der Jodzahl	Nummer des Käses (s. Tab. IX) mit welchem der Versuch angesetzt wurde
Im Keller	14 Tage	+ 0,0346	+ 0,25	IV
„ Zimmer	14 „	+ 0,1214	- 3,8	III
„ „	27 „	+ 0,1104	- 4,3	III
„ „	45 „	+ 0,0894	+ 0,5	III
„ „	60 „	+ 0,1474	- 6,9	III
„ „	2 1/2 Monate	+ 0,0785	- 3,55	IV
„ Keller	2 1/2 „	+ 0,0745	- 10,25	IV
„ Zimmer	2 1/2 „	+ 0,0146	- 5,8	IV
„ „	3 1/2 „	+ 0,1144	- 8,9	III
„ „	4 „	+ 0,1254	- 7,4	III

Tabelle XII.

Käse, in Petrischalen sterilisiert	Zeit bis zur Fettsäurebestimmung	Veränderung der Fettsäuremenge in 100 g Käse	Veränderung der Jodzahl	Nummer des Käses (s. Tab. IX) mit welchem der Versuch angesetzt wurde	Bemerkungen
+ Oidium lactis	17 Tage	- 0,0216	+ 2,8	III	Am Ende Reinkultur bewiesen
+ „ „	26 „	- 0,0074	- 3,7	II	
+ „ „	2 Monate	- 0,3464	- 0,5	II	
+ „ „	3 1/2 „	- 0,0956	- 9,8	III	
+ Penicillium glaucum . .	17 Tage	+ 0,1154	+ 9,4	III	
+ Penicillium glaucum . .	32 „	+ 0,0454	- 2,9	III	Käse am Ende steril In allen diesen Versuchen mit Bakterien war der Käse am Ende wieder steril Die erhöhten Fettsäure- u. Jodzahlen 0,1306 und 1,8 sind wohl verursacht durch eine Penicilliumkolonie, die z. Schluß als Verunreinigung auftrat.
+ Botrytis . .	17 „	+ 0,0514	+ 6,7	III	
+ „ „	3 1/2 Monate	+ 0,0264	- 2,4	III	
+ B. acidi lactici	38 Tage	+ 0,0686	- 0,5	II	
+ B. coli . . .	38 „	+ 0,0846	- 0,6	II	
+ „ „ . . .	2 Monate	+ 0,0916	- 0,7	II	
+ B. acidi lactici	5 „	+ 0,0756	- 1,2	II	
+ B. coli . . .	5 „	+ 0,1306	+ 1,8	II	
+ „ „ . . .	5 „	+ 0,0476	+ 0,4	II	
steril aufbewahrt	39 Tage	- 0,0174	+ 0,3	III	
„ „	3 1/2 Monate	+ 0,0126	- 2,2	III	
Mit etwas altem Quarkkäse geimpft	26 Tage	+ 0,1516	- 11,9	II	

Schlüsse aus den Versuchen mit Quarkkäse.

1. Beim Aufbewahren von Quarkkäse nehmen die höheren Fettsäuren am Anfang zu, dann fängt der Gehalt an zu sinken.

2. Unter Toluol zeigt der Quarkkäse eine gewisse Zunahme, die möglicherweise auf die noch eine Zeitlang unter Toluol fort-dauernde Bakterientätigkeit zu beziehen ist, vielleicht auch Ekto- oder Endofermenten bakteriellen Ursprungs zuzuschreiben, die bei der Einsetzung in Toluol schon fertig gebildet waren. Es können natürlich auch Milchfermente schuld sein, die nicht von Bakterien stammen.

3. *Oidium lactis* hat niemals in den Versuchen irgendwelche Fettsäurevermehrung hervorgerufen, im Gegenteil eine Verminderung. Möglicherweise ist es die Ursache der Abnahme der Fettsäuren in lang aufbewahrten normalen Proben, besonders, da es scheint, als ob *Oidium lactis* am längsten in der Käsemasse am Leben bleibt. In alten Proben konnte *Oidium lactis* immer reichlich am Leben gefunden werden, wenn dagegen die Bakterien und das *Penicillium* zugrunde gegangen waren. Diese Resultate widersprechen denen von Laxa²⁴), der im Kaseinnährboden, mit *Oidium* geimpft, eine Zunahme der höheren Fettsäuren bekam. Möglicherweise aber war es in seinem Versuch nur ein Freiwerden von schon vorhandenen und nicht eine Bildung von Fettsäuren, wie ich schon oben angedeutet habe.

4. Werden gekochte Quarkproben mit *Penicillium*, *Botrytis* oder fünf verschiedenen aus Käse isolierten Bakterienstämmen infiziert, so kommt es zu einer bescheidenen Fettsäurevermehrung, die stets erheblich hinter der zurückbleibt, die in natürlichen Quarkproben im Zimmer stattfindet. Es ist die Geringfügigkeit der Zunahme entweder durch die schädigende Wirkung des Kochens auf die physikalische und chemische Beschaffenheit der Käsemasse zu erklären oder dadurch, daß die richtigen, fettbildenden Organismen nicht eingepft wurden.

Immerhin spricht die Tatsache, daß auch steriler Quark, mit normalen Quarkpartikeln geimpft, eine geringe Zunahme an

nicht flüchtigen Fettsäuren zeigt, für die andere Annahme der Störung der Eigenschaften der Käsemasse durch das Kochen.

5. Die Vermehrung der nicht flüchtigen Fettsäuren in aufbewahrttem Käse ist also wohl durch die Tätigkeit der Mikroorganismen verursacht.

Aus den Jodzahlen schließe ich:

1. Die Jodzahl sinkt mit zunehmendem Fettsäuregehalt

a) bei normal aufbewahrttem Quark (hier ist die Abnahme meist sehr stark);

b) bei Quark unter Toluol (zwei Ausnahmen, wo die Jodzahl eigentlich konstant blieb);

c) bei sterilisiertem Käse, mit Bakterien geimpft (eine Ausnahme, wo die Jodzahl ungefähr konstant blieb).

2. Dagegen ergaben die sterilen Proben, mit Schimmel oder *Oidium lactis* geimpft, eine erhöhte Jodzahl am Anfang, später sanken die Zahlen etwas.

Eine der sterilen Proben, plus *B. coli*, zeigt deutlich den Einfluß eines ein paar Wochen wirkenden, verunreinigenden Schimmels (*Pen. glaucum*), indem dadurch die Jodzahl etwas erhöht wird.

3. Die Abnahme der Jodzahl beim Aufbewahren des Käses kann nicht, wie bei den Leichenwachsversuchen, teilweise durch mechanische Entziehung der noch flüssigen Ölsäure erklärt werden; sie muß ein Resultat bakterieller Tätigkeit sein.

Hauptergebnisse.

Die Leichenwachsversuche mit Aufbewahren von Fleisch unter strömendem Wasser und die Quarkkäseversuche haben beide eine anfängliche mäßige Steigerung und eine darauffolgende Abnahme der Menge der nicht flüchtigen Fettsäuren ergeben. Diese Veränderungen scheinen durch Wirkung von Mikroorganismen hervorgerufen zu sein. Auch findet beim Aufbewahren von frischem Käse wie von Fleisch ein ständiges Absinken der Jodzahl der Fettsäuren statt.

Die gefundene anfängliche Zunahme der Fettmenge erscheint gering im Verhältnis zu den großen Mengen Leichenwachs in typisch ausgebildeten Fällen von Leichenwachsbildung. Es liefert offenbar das scheinbar aus den Muskeln entstehende Fett nur einen bescheidenen — praktisch wohl oft verschwindenden — Beitrag zu den großen Leichenwachsmengen, die durch Verseifung des Körperfettes entstehen.

Literatur.

1. Kratter, Zeitschr. f. Biol. 1880, Bd. XVI, S. 455.
2. Zillner, Vierteljahrschr. f. ger. Med. usw. 1885, Bd. XLII, N. F., Heft 1.
3. Gibbes, Philos. Transactions 1794, Bd. II, S. 169.
4. Quain, Med. chir. Transactions 1850, Bd. 33, S. 140.
5. Virchow, Verhandl. d. phys. med. Ges. Würzburg 1852, Bd. III, S. 369.
6. v. Hofmann, Wiener med. Pr. 1890.
7. Gay-Lussac, } Orfila u. Lesueur, Handbuch.
8. Chevreul, } Aus dem Französischen von Güntz,
9. Orfila u. Lesueur } Leipzig 1832.
10. Secretan u. Nencki, Archiv d. Sciences d. l. Bibliothèque Univ. Genève 1856. Nencki, Op. omnia Bd. 1, S. 216.
11. K. B. Lehmann, Sitzungsber. d. Würzburger phys. med. Ges. 1888. Zeitschr. f. Biol. 1888, S. 516.
12. E. Voit, Münch. med. Wochenschr. 1888, S. 518.
13. Pflüger-Dormeyer, Pflügers Archiv 1897, Bd. LXV, S. 90.
14. Rosenfeld, Zentralbl. f. Innere Med. 1900, S. 33.
15. Bogdanow, Pflügers Archiv 1897, Bd. 86, S. 389; Chem. Zentralblatt 1908, Bd. 1, S. 1307.
16. Liebermann u. Szekely, Pflügers Archiv 1898, Bd. 72, S. 360.
17. Kumagawa u. Suto, Biochem. Zeitschr. 1908, Bd. VIII.
18. Ohta, Biochem. Zeitschr. 1910, Bd. 29, S. 1.
19. Shibata, Biochem. Zeitschr. 1911, Bd. 31, S. 321.
20. Borri, Lo Sperimentale 1902, vol. 1.
21. Blondeau, Ann. chim. phys. 1864, 4me série, pag. 1.
22. Brassier, Ann. chim. phys. 1865, 4me série, p. 5.
23. N. Sieber, Journ. f. prakt. Chemie Bd. 21, S. 203; Nencki, Op. omnia Bd. 1, S. 538.
24. Jacobstal, Pflügers Archiv 1893, Bd. 54, S. 484.
25. Laxa, Arch. f. Hygiene 1902, Bd. XLI, S. 119.

Beobachtungen bei blutlösenden und bei gramnegativen Streptokokken.

Von
Dr. Rudolf Jaffé,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 31. März 1912.)

Nachdem die Anregung gegeben war¹⁾, die Streptokokken danach einzuteilen, ob sie imstande seien, Blutfarbstoff zu lösen oder nicht, haben viele Autoren diese Ansicht bestätigt, viele aber auch ihr widersprochen. Nachdem es dann gelungen war, hämolytische Streptokokken in nicht hämolytische umzuzüchten und umgekehrt²⁾, wurde behauptet, daß die Einteilung nur bei frisch

1) Ich habe auf die Wiedergabe der ganzen einschlägigen Literatur gern verzichtet, da sie bereits oft genug zusammengestellt wurde. Reichlich neuere Literaturangabe findet sich z. B. bei *Schultze*, *Walther H.*, Zur Differentialdiagnose der menschenpathogenen Strept. Münch. med. Wochenschrift 1907, S. 1167 und 1532. *Nieter A.*, Zur Streptokokkenfrage. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh. 1907, S. 307. *Sachs E.*, Über Streptokokkenhämolyse. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh. 1909, S. 463.

2) U. a. bei *Lüdke und Polano*, Über Hämolyse der Streptokokken. Münch. med. Wochenschrift 1909, S. 7. *Levy*, Richard, Die Hämolyse d. Strept. Deutsche Med. Wochenschrift 1909, S. 676. *Zöppritz*, B., Über Streptokokkenversuche. Med. Klinik 1909, Nr. 70, S. 1112. *Hoeßli*, Hans, Das Verhalten der Strept. gegenüber Plasma und Serum und ihre Umzüchtung. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.-Bd. 55, S. 135. *Nasvig*, Bakteriolog. Verhältnisse im weiblichen Genitalsekret. Arch. f. Gynäk., Bd. 76, Heft 3.

aus dem Körper gezüchteten Stämmen möglich sei, da sie auf künstlichen Nährböden sehr bald degenerierten. Wenn auch diese Ansicht schon häufig bestritten worden ist, so herrscht doch heute noch keine vollkommene Klarheit darüber, ob die Fähigkeit, Blutfarbstoff zu lösen, einen diagnostischen Wert besitzt, und ob eine Einteilung der Streptokokken in einzelne Arten nach diesen Gesichtspunkten überhaupt berechtigt ist.

Einige zufällige Befunde, die ich bei der Untersuchung von pathologischem Material an Streptokokken, speziell auch hinsichtlich ihrer hämolytischen Eigenschaften machte, schienen mir für eine kurze Notiz wert zu sein, da sie entschieden gegen eine Einteilungsmöglichkeit auf Grund der Hämolyse sprechen.

I. Hämolytisches Verhalten.

Zur Untersuchung wurden drei Stämme benutzt. Der erste, Stamm »Müller« war aus einer *Handphlegmone*, der zweite, Stamm »Schatz«, aus einem *Zungeninfiltrat*, aus dem zugleich ein *Aktinomyzes* gezüchtet war, isoliert, der dritte stammte aus der Lunge eines Meerschweinchens.

Ich züchtete die Stämme zunächst nur auf 5% Hammelblutagar. Sie wurden möglichst oft, mitunter täglich, spätestens aber nach acht Tagen überimpft. Die Untersuchungen erstrecken sich jetzt auf ca. sechs Monate.

Alle drei Stämme zeigten zunächst sehr starke Hämolyse. Der Blutfarbstoff war nicht nur unter dem Impfstrich, sondern auch noch in breitem Hof gelöst. Die Hämolyse schwand aber bei allen Stämmen bei weiterer Überimpfung, und zwar wuchsen sie dann, besonders der aus dem Meerschweinchen isolierte Stamm, später vollkommen als »viridis«¹⁾. Bei diesem trat jetzt regelmäßig sehr starke Grünfärbung auf. Auffallend war dabei, daß die Kolonien fest im Agar saßen, fast aktinomyzesartig, so daß beim Überimpfen immer etwas Agar mit verstrichen werden mußte.

Mir lag nun daran, zu versuchen, ob die Hämolyse durch künstliche Mittel wieder erworben werden könnte, und zwar ohne Tierpassage.

1) nach Schottmüller.

Ich impfte daher die Stämme in Bouillon und von dort wieder auf Blutagar, und dadurch gelang es tatsächlich bei allen Stämmen, sie wieder hämolytisch, und zwar in alter Stärke hämolytisch zu machen. Dieser Versuch wurde dann öfters wiederholt, hatte aber nicht stets das gleiche Resultat. Manchesmal blieb die Hämolyse trotzdem aus, ein anderes Mal trat sie wieder auf. Sie schwand dann aber stets wieder nach längerer oder kürzerer Zeit auf Blutagar.

Denselben Erfolg konnte ich auch dadurch erreichen, daß ich die Stämme auf Blutagar von anderen Tierarten (Ochse, Kalb, Schwein usw.) brachte. Auch dabei glückte es mitunter, die Hämolyse wieder von neuem zu erzeugen, jedoch gleichfalls nicht immer, so daß von einer Regelmäßigkeit nicht gesprochen werden kann. Leider stand mir nicht regelmäßig Blut genannter Tierarten zur Verfügung. Ich konnte daher nicht feststellen, ob auf diesen Blutarten mit der Zeit die Hämolyse auch wieder geschwunden wäre; anzunehmen ist wohl, daß die Verhältnisse hier ebenso liegen wie beim Hammelblutagar.

War es schon auffällig, daß eine Übertragung auf andere Nährböden die erloschene Fähigkeit, Blutfarbstoff zu lösen, von neuem anregte, so war es noch wunderbarer, daß die Hämolyse mitunter ohne jeden erkennbaren Grund auf dem gleichen 5proz. Hammelblutagar von selbst wieder auftrat. Ich habe diese Tatsache im Laufe der Untersuchungen mehrmals bei allen Stämmen gesehen. Diese spontan wieder aufgetretene Hämolyse unterschied sich in keiner Weise von der, die durch Wechsel des Nährmediums frisch erzeugt war. Stärke und Dauer waren die gleiche, d. h. ebensolchem Wechsel unterworfen, hier wie dort.

Wenn also dieselben Streptokokken-Stämme, die durch sechs Monate auf Blutagar gezogen waren, derartige Schwankungen in der Hämolyse zeigen, daß die ursprünglich vorhandene Fähigkeit, den Blutfarbstoff zu lösen, vollkommen verschwindet, dann wieder auftritt, wieder verschwindet usw., so ist es keinesfalls angängig, diese

Stämme in getrennte hämolysierende und nicht hämolysierende Arten einteilen zu wollen. In dieser Hinsicht befinde ich mich in Übereinstimmung mit den schon oben genannten Autoren, denen gleichfalls Umzüchtung hämolytischer Streptokokken in nicht hämolytische oder auch umgekehrt geglückt war.

II. Gramnegativität.

Zwei von den untersuchten Kulturen wiesen aber noch besondere Eigentümlichkeiten auf, nämlich der Stamm »Müller« und der Stamm »Schatz«. Beide waren durchaus gramnegativ. Die Färbung wurde von allen Nährböden stets mit Kontrolle vorgenommen, hatte aber in jedem Falle das gleiche Resultat.

Gramnegative Streptokokken beim Menschen konnte ich in der mit zugänglichen Literatur noch nirgends beschrieben finden. Dagegen sind aus der Tierheilkunde mehrere derartige Arten bekannt.

Matzuschita¹⁾ beschreibt zwei Arten, den *Strept. mastitidis sporadicae* Guillebeau und den *Strept. albicans*.

Lehmann und Neumann²⁾ führen außerdem noch den *Strept. melanogenes*, einen aus Affen von Lamar in Amerika gezüchteten *Strept.* und den *Strept.* der Brustseuche der Pferde an.

Kitt³⁾ bestreitet allerdings, daß der *Strept. mastitidis* gramnegativ sei.

Hutyra und Marek⁴⁾ beschreiben schließlich außerdem noch den *Borna-Strept.* und den *Streptokokkus* des ansteckenden Scheidenkatarrhs.

1) Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. Fischer, Jena, 1902. Nr. 1181 u. 1182.

2) Lehmann - Neumann, Atlas der bakt. Diagnose, 5. Aufl., 1912.

3) Kitt, Bakterienkunde und pathol. Mikroskopie.

4) Hutyra und Marek, Pathologie und Therapie der Haustiere. II. 638, II. 733 u. I. 750.

Das Wachstum des Stammes »Müller« kann kurz folgendermaßen charakterisiert werden:

A g a r: Sehr langsam, ganz kleine, feine durchsichtige Kolonien.

Glyzerinagar: Etwas schneller und üppiger, feine durchsichtige Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung Rand deutlich gebuchtet.

Bouillon: Feiner Bodensatz. Keine Trübung. Mikroskopisch lange Ketten.

Löffler serum: In 24 Stunden starkes Wachstum. Mikroskopisch: lanceolatusähnlich. Meist Doppelkokken.

Wie ja auch gelegentlich bei anderen Stämmen, war auch hier eine Art Verzweigung zu sehen. Diese kommt wohl dadurch zustande, daß nach Längsteilung der Kette die eine Hälfte nach links, die andere nach rechts weiterwächst.

In hochgeschichtetem Zuckeragar, Schüttelkultur, zahlreiche Kolonien.

In hochgeschichtetem Glyzerin- und gewöhnlichem Agar Wachstum gut, aber schwächer als in Zuckeragar.

Milch wird nicht koaguliert.

Gelatine: Wachstum nur bei 37° möglich.

5% Hammeblutagar (über Hämolyse s. vorn): Mikroskopisch sehr polymorph. Es fanden sich echte kleine Kokken, zum Teil auch in Kettenform, zum Teil als Doppelkokken, zum Teil einzeln, dann alle Übergänge zu Kurzstäbchen, und zwar dickere und dünnere, bis hinauf zu richtigen, langen, dünnen Stäbchen. Es machte uns zunächst vollkommen den Eindruck, als ob es sich um grobe Verunreinigungen handele. Genaueste Untersuchungen zeigten aber, daß dies nicht der Fall war. Durch Übertragung in Bouillon gelang es jedesmal, wieder die typischen Streptokokken in langen Ketten zu erhalten, während auf Blutagar stets der Polymorphismus zutage trat.

Pathogenität. Eine Maus mit einer Öse Kultur intraperitoneal geimpft, ist nach 24 Stunden tot. Aus allen Organen, auch dem Blut, sind Strept. züchtbar. (Hämolyse zunächst negativ, später positiv. Zunächst Bildung von grünem Farbstoff, der später

schwindet.) Eine zweite Maus, mit einer Öse Blut von der ersten Maus geimpft, ist nach 24 Stunden sehr matt, erholt sich dann aber.

Eine Ratte, intraperitoneal geimpft, bleibt gesund.

Ganz ähnlich in kultureller Beziehung verhielt sich der Stamm »Schatz«, der außerdem gleichfalls absolut gramnegativ war.

Nach dem ganzen morphologischen und biologischen Verhalten gehören diese Stämme gleichfalls zum *Strept. pyogenes*, selbst wenn auch die an sich charakteristische Eigenschaft der Gramnegativität ein abweichendes Merkmal bildet. Es dürfte aber auch diese Differenz nicht genügen, um eine neue Art aufzustellen.

III. Wechselndes Wachstum.

Nachdem ich diesen Stamm »Schatz« bereits fast zwei Monate fortgezüchtet, und Verschwinden der Hämolyse, plötzliches Wiederauftreten und abermaliges Verschwinden gesehen hatte, sah ich plötzlich, daß die erst dünn, typisch streptokokkenartig gewachsenen Impfstriche nach mehrtägigem Stehenlassen anfangen, dick, schleimig zu werden, um schließlich ein braungraues, im übrigen üppig saftiges, Friedländerartiges Aussehen anzunehmen. Auf anderen Platten blieben die Kulturen aber typisch dünn, fein. Das mikroskopische Bild war bei den feinen Kolonien das gleiche wie bei den üppigen: kleine, gramnegative Kokken, zum Teil in kurzen Ketten, dann alle Übergänge zur Stäbchenform bis hinauf zu ziemlich langen, dünnen Stäbchen, die aber meist auch in Kettenform angeordnet waren.

Diese üppigen Kulturen wurden nun wiederum auf andere Nährböden verimpft, wo sie sich gerade so verhielten wie auf Blutagar. Sie wuchsen zunächst fein, durchsichtig, allmählich nach tagelangem Wachstum bei Zimmertemperatur üppig, Friedländerartig. Das mikroskopische Aussehen von Löfflerserum und Glycerinagar war lanceolatusartig, wobei die Diplokokkenform vorherrschte.

Von diesen ersten üppig wachsenden Kolonien wurde gleichzeitig wieder auf Blutagar weiter geimpft, dabei trat typisches Streptokokkenwachstum mit mäßig starker Hämolyse auf. Abimpfen in Bouillon ergab gramnegative Kokken in langen Ketten, Übertragen von Bouillon auf Blutagar zeigte zunächst dünnes

Wachstum mit Hämolyse; erst allmählich wurden die Kulturen wieder dick.

Durch Zwischenübertragung auf Bouillon gelang es mir einmal, auch aus dem üppig wachsenden wieder den fein wachsenden Stamm zu erhalten. Dieser ist auch bis heute fein geblieben und hat die gleichen Schwankungen in der Hämolyse gezeigt wie die anderen. Den dicken Stamm konnte ich auf dem gleichen 5proz. Hammelblutagar in gleicher Üppigkeit weiterzüchten. Er wächst heute meist schon nach 24 Stunden dick üppig, hat aber die Fähigkeit, Blutfarbstoff zu lösen, ganz verloren und auch niemals wieder erhalten.

Durch mehrmaliges Wechseln der Blutarten gelang es mir auch, das üppige Wachstum so weit zurückzudrängen, daß nach 24 Stunden die Kulturen wie typische Streptokokken aussahen, nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur kehrte aber die alte Üppigkeit wieder.

Vor kurzer Zeit erschien nun eine Arbeit, in der Klinge r¹⁾ eine neue Bakterienart beschreibt, die er mit Aktinomykose vergesellschaftet gefunden hat, und die er *B. actinomycetem comitans* nennt. Diese Art stimmt in vielen Punkten mit dem eben beschriebenen Streptokokkus überein.

Auch Klinge r fand die Form zunächst als Streptokokkus, auch in flüssiger Gelatine und Bouillon war die Kokkenform häufiger als Stäbchenform, da aber alle Übergangsformen zu Stäbchen vorkamen (besonders auf Agar), bezeichnet er es dann doch als Bakterium. Mir scheint aber doch die Form, die im Originalausstrich gefunden wird, und die, wie sie in flüssigen Nährmedien auftritt, von größerer Bedeutung für die Beurteilung der Zugehörigkeit zu einer Gruppe zu sein.

Auch die Klingerschen Formen waren durchaus gramnegativ.

Das Wachstum scheint, soweit es sich aus einer Beschreibung entnehmen läßt, im großen Ganzen das gleiche gewesen zu sein. Nur in Gelatine wuchs mein Stamm, ähnlich wie in Bouillon, unter Bildung eines krümeligen Bodensatzes, der beim Umschütteln

1) Klinge r, Untersuchungen über menschliche Actinomykose. Zentralbl. f. Bakt. 1912, Bd. 62, S. 198.

als dicke, zäh zusammenhängende Wolke imponierte, während Klinger die Kulturen als an der Glaswand haftend hauptsächlich an der Oberfläche beschreibt.

Auf Blutagar hat Klinger seine Stämme nicht geprüft.

Seine Kulturen stammten ebenso wie meine von Fällen von Aktinomykose.

Es läßt sich infolgedessen auch nicht sicher entscheiden, ob der Klingersche Stamm wirklich eine neue Art darstellt, ebensowenig auch, ob er zu den Streptokokken oder Bakterien gehört. Wenn ich für meinen Teil auch anzunehmen geneigt bin, daß mein Stamm mit den Klingerschen Stämmen identisch ist, so halte ich es doch nicht für angezeigt, den eben beschriebenen Stamm »Schatz« als neue Art anzusprechen. Ich möchte ihn vielmehr gleichfalls, wie auch den Stamm »Müller«, mit zu dem Strept. pyogenes rechnen, trotz Gramnegativität, mikroskopischer Abweichungen und des saftigen Wachstums. Ob diese beiden letzteren Merkmale überhaupt nur diesem Stamm zukommen, oder bei so langer Züchtung auf Blutagar häufiger beobachtet werden könnten, müßte eine größere Zahl darauf ausgehender Beobachtungen entscheiden.

Ergebnisse.

1. Die Hämolyse ist als differentialdiagnostisches Mittel für Streptokokken ungeeignet, da sie eine viel zu inkonstante Größe ist und ohne erkennbare Ursache verschwinden und wieder auftreten kann.

2. Zwei von den untersuchten Stämmen waren absolut gramnegativ.

3. Diese beiden Stämme wiesen im mikroskopischen Bild neben typischer Streptokokkenform auch alle Übergänge bis zur Stäbchenform auf.

4. Ein Stamm zeigte bei langem Fortzüchten auf 5proz. Hammelblutagar dickes, üppiges, graubraunes Wachstum.

5. Diese üppige Form konnte sowohl fortgezüchtet werden, als auch gelang es, sie in das ursprüngliche zarte Wachstum zurückzuführen.

Variationen in der Typhus-Koli-Gruppe.

Von
Dr. Rudolf Jaffé,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 31. März 1912.)

Einleitung.

Es kann nicht bezweifelt werden, daß die Diagnose der Vertreter der Typhus-Koli-Gruppen immer schwieriger wird, je mehr wir im Menschen und in seiner Umgebung Organismen auffinden, die zwar den bekannten Typen äußerst ähnlich sind, doch aber wieder in einzelnen Punkten abweichen. Die Periode in der Bakteriologie, wo man mit zäher Festigkeit an der Konstanz der Arten festhielt, hat erfreulicherweise in neuer Zeit einer anderen, etwas weitherzigeren Auffassung Platz gemacht und die Frage nach der Variabilität mehr in den Vordergrund treten lassen.

Im einzelnen spiegelt sich aber doch in der medizinisch-bakteriologischen Literatur noch die Ansicht wider, daß nur der eine oder andere pathogene Organismus von besonderer Bedeutung sei, während die große Zahl der saprophytischen verwandten Bakterien als unwesentlich vielfach ganz außer acht gelassen wird.

Dies tritt ganz besonders auffällig in Erscheinung bei der Frage nach der Bedeutung des *B. coli* im Wasser. Hierbei soll nur das *B. coli*, also der »typische« *Coli* aus mensch-

10**

lichem oder eventuell aus tierischem Darminhalt der Beachtung wert sein. Aber eine Norm darüber aufzustellen, was typisch ist, hat sich als ungemein schwierig herausgestellt. Denn es wird noch viel zu wenig beachtet, daß auch bei den sogenannten »konstantesten« Arten Abweichungen genug vorkommen, die das diagnostische Bild verschleiern. Und das ist gerade bei der Typhus-Koli-Gruppe so häufig der Fall.

Bei dieser Sachlage schien uns ein Beitrag von Interesse, welcher in der Lage ist, zu zeigen, wie weit die Differenzen gehen und wie sie zu beurteilen sind. Es sollte einmal festgestellt werden, welche als typisch angesehene Merkmale überhaupt für die Diagnose brauchbar sind, und gleichzeitig, ob die aus pathologischen Fällen gezüchteten Koli-Vertreter sich typischer verhalten als die aus der Umgebung des Menschen. Andererseits wurden Nachforschungen angestellt, ob die in Wasser gebrachten Koli ihren Typus beibehalten.

Definition des „typischen“ B. coli in der Literatur.

G ä r t n e r¹⁾ hat in seiner Arbeit über die Bedeutung des B. coli-Befundes im Wasser bereits die Ansicht verschiedener Forscher über den Begriff des typischen Koli zusammengefaßt. Diesen Ausführungen wollen wir zunächst folgen und dann noch zwei Meinungen neuerer Autoren Platz gewähren.

Escherich, welcher das B. coli commune in die Literatur eingeführt hat, verlangt vom B. coli folgende Eigenschaften:

»Es ist ein plumpes grades Stäbchen mit abgerundeten Ecken, welches sich nicht selten der Kokkenform nähert, sporenlos, gramnegativ und beweglich, also mit Geißeln, und zwar in geringer Zahl, versehen, die Gelatine nicht verflüssigt, in der Tiefe der Gelatine bräunliche, an der Oberfläche weinblattartige, bläulich weiße, oft irisierende Kolonien, auf Kartoffeln bei 37° einen saftigen, gelblichen, nach einigen Tagen sich leicht bräunenden Kulturrasen bildet, Milch nach ein bis zwei Tagen dauernder Bebrütung zur

1) Gärtner, Das Bacterium coli als Indikator für fäkale Verunreinigung eines Wassers. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh., Bd. 67, S. 55.

Gerinnung bringt, in Peptonwasser Indol bildet, sodann Milch und Traubenzucker unter Säure- und Gasbildung zerlegt.«

P f a u n d l e r unterscheidet obligate beständige oder essentielle und fakultative, unbeständige oder sekundäre Eigenschaften. Zu ersteren zählen als positive Merkmale die Kurzstäbchenform der Individuen, das relativ üppige Wachstum auf den gebräuchlichsten Nährböden und die Entfärbung bei Anwendung der Gramschen Tinktionsmethode, als negative Merkmale die mangelnde Befähigung zur Verflüssigung von Gelatine und die unter gewöhnlichen Umständen ausbleibende Sporenbildung. Die wichtigsten der fakultativen Charaktere wären die Indolbildung, die Zuckervergärung, die Milchgerinnung, die Beweglichkeit, ein gewisser Grad von Pathogenität usw.

Zusammenfassend sagt K o n r i c h :

»Als *B. coli* muß man ansehen Bakterien, welche die Gelatine nicht verflüssigen, gramnegativ sind, keine Sporen bilden, in Form von Kurzstäbchen bis herunter zu den Kokken angenäherten Formen auftreten und bei 37° Traubenzucker unter Gasbildung zerlegen.

Solche Bakterien zeigen in abnehmender Häufigkeit noch die folgenden Eigenschaften: sie können aus Milchzucker Säure bilden, noch bei 40° wachsen, aus Milchzucker Gas bilden, Fluoreszenz in Neutralrot Nährböden und Indol in Peptonwasser erzeugen.«

K o n r i c h fand bei Vergleich von Koli aus Fäzes, Boden und Wasser die meisten atypischen in den Fäzes, nämlich von 1188 390 aus Fäzes, 338 aus Boden, 318 aus Wasser.

Von 761 Fäzesstämmen waren 390 atypisch, also mehr als die Hälfte.

P e t r u s c h k y faßt als *B. coli* »ein gramnegatives, Gelatine nicht verflüssigendes Trauben- und Milchzucker unter Säure- und Gasbildung vergärendes, Lackmusmolke daher stark rotfärbendes und trübendes Bakterium auf. Beweglichkeit kann vorhanden sein oder fehlen.« »Es ist nicht nützlich, den Begriff des *B. coli* noch weiter auszudehnen.«

Die amerikanische Kommission von 1905 verlangt folgende Eigenschaften:

1. Typische Morphologie, nicht sporenbildender, relativ kleiner, oft dicker Bazillus.
2. Beweglichkeit, soweit die Prüfung an jungen Fleischbrühe- oder Gelatinekulturen stattgefunden hat.
3. Vergärung von Dextrosebrühe mit Bildung von ungefähr 20% Gas, von welchem rund $\frac{1}{3}$ (CO_2) absorbiert wird durch eine 2proz. Lösung von Natriumhydrat.
4. Gerinnung von Milch mit der Erzeugung von Säure in 48 Stunden oder mehr bei 37° entweder spontan oder nach dem Aufkochen
5. Nichtverflüssigung der Gelatine.
6. Erzeugung von Indol in Peptonlösung.
7. Reduktion von Nitraten.

Die englische Kommission von 1904 beschreibt den typischen Koli folgendermaßen:

Ein kleiner beweglicher, sporenloser Bazillus, welcher sowohl bei 37° als auch bei Zimmertemperatur wächst. Die Beweglichkeit ist zu beobachten bei jungen Kulturen in einem flüssigen Glykosemedium. Er entfärbt sich nach der Gramschen Färbemethode. Niemals verflüssigt er Gelatine, und die Gelatinekulturen müssen wenigstens zehn Tage aufgehoben werden, um verflüssigende Bazillen auszuschließen. Er zeigt ein glattes dünnes Oberflächenwachstum und ebensolche Kolonien, die nicht runzelig sind, und welche auch gut in der Tiefe der Nichtkultur wachsen (fakultative Anaerobiose). Er erzeugt eine dauernde Säuerung der Milch und bringt sie innerhalb sieben Tagen bei 37° zur Gerinnung. Er vergärt Glykose und Laktose unter Bildung sowohl von Säure als auch von Gas. Der typische Bazillus muß mit der vorstehenden Beschreibung übereinstimmen und die angegebenen Reaktionen hervorbringen.

Er bildet gemeiniglich ebenfalls Indol, einen dicken graubraunen Belag auf Kartoffeln (der sehr abhängig ist von der Art der Kartoffeln), zuweilen (in 50 %) vergärt er Saccharose, verändert Neutralrot (Grüblers) und reduziert Nitrate; die Hälfte des Gases, das von ihm in Glykose produziert wird, ist durch Kalilauge absorbierbar; und diese Reaktionen mögen, wenn Zeit und Gelegenheit es erlauben, ausgeführt werden als Zusatz zu den vorhergehend erwähnten.

Gärtner teilt dann noch die Ansicht mit, die Houston über den Koli zu verschiedenen Zeiten gefällt hat, und sagt:

Houston verlangte bis zum Ende des Jahres 1906 außer den allgemein geforderten morphologischen und färberischen Eigenschaften und der Vergärung von Dextrose von einem typischen Koli noch folgendes: Die Mikrobe muß Neutralrot in einen gelbgrünen, fluoreszierenden Farbstoff umwandeln, in Laktosepeptonwasser Säure und Gas, in Peptonwasser Indol und in mit Lackmus gefärbter Milch Säure und Gerinnung bewirken. Die Probe auf diese Reaktion nennt er den »Flaginac-test«. Seither aber verwendet er den »quintuplen preferential B. coli-test«, d. h. er verlangte außer den erwähnten färberischen und morphologischen Eigenschaften und dem Gärungsvermögen für Dextrose die Vergärung von Laktose und die Bildung von Indol. Dann prüft er aber, ob Vergärung von Saccharose eintritt. Die Organismen, welche außer Dextrose Laktose und Saccharose vergären und Indol bilden, sind »typische Koli«, die jedoch, welche Dextrose und Laktose angreifen und Indol bilden, aber die Saccharose verschmähen, sind »besonders typische Koli«.

Außerdem sind noch die Angaben von Hilgermann und Savage von Interesse.

Hilgermann¹⁾, der echte Koli als Verunreinigung des Wassers ansieht, sagt:

Echt ist ein Koli, wenn er sich folgendermaßen verhält:

1) Hilgermann, Der Wert des B. coli-Befundes zur Beurteilung der Reinheit eines Wassers. Klin. Jahrbuch 1909, Bd. 22, Heft 2.

1. Beweglichkeit.
2. Gramnegativität.
3. Keine Gelatineverflüssigung.
4. Koagulation der Milch.
5. Völlige Klärung des bei der Koagulation der Milch ausgepreßten Serums.
6. Koagulation im Milchkölbchen. Keine Gasbildung, Klärung des Serums.
7. Prüfung auf Indol nach Ehrlich. Beobachtungszeit 48 Stunden (Indolbildung kann auch bei echten Kolibazillen fehlen).
8. Vergärung von Traubenzucker.
9. Vergärung von Milchzucker.
10. Vergärung und Fluoreszenz in Neutralrotagar nach Rothberger.
11. Gasbildung in Traubenzuckerbouillon.
12. Säuerung und Trübung der Lackmusmolke.
13. Rote Kolonien auf Drygalskischem Nährboden.
14. Rotfärbung mit Säurehof um die Kolonien auf Endoagar.
15. Gärung bei 46°.

Savage¹⁾ verlangt zur Identifizierung des typischen Koli folgende Prüfungen:

1. Wachstum im Gelatineröhrchen.
2. Nichtverflüssigung von Gelatine in 14 Tagen.
3. Andauernde Säurebildung.
4. Zerlegung von Glykose und Laktose.
5. Koagulation der Milch in 14 Tagen.
6. Neutralrotreaktion. Indolbildung und Beweglichkeit des frisch herausgezüchteten Stammes ist von geringerer Wichtigkeit.

Man sieht also aus diesem Literaturüberblick, daß noch keinerlei Einigkeit darüber besteht, was als typisches Koli anzusprechen ist. Die Eigenschaften, die von allen Autoren übereinstimmend verlangt werden, sind eigentlich nur solche, die der ganzen Typhus-Koli-Gruppe zukommen, nämlich typische Morphologie, fehlende Sporenbildung und Gramnegativität, dazu kommt noch als besonderes Charakteristikum fehlende Verflüssigung der Gelatine und Gasbildung in Traubenzuckernährböden. Beweglichkeit fordern drei Autoren, während vier andere sie nur als häufig vorhanden betrachten, dagegen wird die Zerlegung von Milchzucker und Koagulation der Milch von sechs Forschern verlangt. Neutralrotreduktion wird nur von vier, Indolbildung sogar nur von drei Autoren gefordert. Zu diesen Merkmalen kommen noch einige Prüfungen, so das Verhalten in Lackmusmolke, das Wachs-

1) Savage, The characters of the Bacillus coli as an indicator of excretal contamination. Lancet 1905, Febr. 4, p. 284.

tum auf Kartoffeln, typisches Wachstum auf Schrägagar oder Gelatine, Verhalten zu verschiedenen Zuckerarten usw., die mitunter als typisch für ein Koli angesehen werden. Bezeichnend ist es aber, daß fast jeder Autor Eigenschaften anführt, die vorkommen oder fehlen können, so daß also damit zugegeben wird, daß eine absolut feste Umschreibung des Begriffes Koli unmöglich ist.

Diese Untersuchungen, deren Liste sich leicht noch vergrößern ließe, waren größtenteils an Stämmen vorgenommen worden, die aus dem Wasser isoliert wurden, nur einzelne Autoren hatten auch eine größere Anzahl aus dem Menschen gezüchtet, meist aber aus normalem Stuhl¹⁾. Es fehlte also noch eine genauere Übersicht über solche Koliarten, die von pathologischen Fällen aus dem Menschen stammten. War es doch immerhin möglich, bei ihnen mehr typische als atypische Vertreter zu finden.

I.

Untersuchungen über das Verhalten der aus pathologischen Fällen stammenden Organismen auf den Nährböden.

Die Stämme isolierte ich frisch aus Stuhl, Urin, Scheidensekret, Uterussekret, Blut. Außerdem dienten zum Vergleich Stämme aus der Sammlung des Hygienischen Instituts und Typhusstämmen aus dem Untersuchungsamt, im ganzen ca. 100 Einzelkulturen.

An der Hand der von Lehmann-Neumann²⁾ angegebenen differentialdiagnostischen Merkmale sind alle Kulturen auf folgende Eigenschaften hin untersucht worden:

1. Wachstum auf Drygalskischem Nährboden.
2. Wachstum auf Endoagar.
3. Gasbildung in Traubenzuckeragar.
4. Neutralrotagar.

1) Burk untersuchte 139 Stämme aus Stuhl von 68 Patienten, die auf Typhus untersucht werden sollten. Seine Resultate siehe weiter unten. Zentralbl. f. Bakt., Orig. 45, S. 577.

2) Lehmann-Neumann, Atlas der bakter. Diagnostik, 5. Aufl., 1912.

5. Lakmusmolke.
6. Milchkoagulation.
7. Beweglichkeit.
8. Gramfärbbarkeit.
9. Gelatineverflüssigung.
10. Wachstum auf Schrägagar.
11. Schwefelwasserstoffbildung.
12. Indolbildung.
13. Hämolyse.
14. Agglutination mit Typhus-Immuns-
serum.
15. Agglutination mit Paratyphus B-Im-
munserum.
16. Agglutination mit Paratyphus A-Im-
munserum.
17. Agglutination mit Gärtner-Immuns-
serum.

Die Zusammenstellung aller Versuche siehe auf der Tabelle am Ende der Arbeit!

a) Koli und Koli-Ähnliche.

Von den untersuchten 97 Stämmen sind 22 als Typhus bestimmt. Diese sollen gesondert besprochen, dagegen die Paratyphus- und Enteritisstämme unter den Koli aufgeführt werden.

Unter der Annahme, daß ein »typischer« Koli alle die eben genannten Eigenschaften in dem Sinne haben müsse, wie es von den eingangs erwähnten Autoren verlangt wurde, würde ich unter 75 Stämmen nur vier als typisch bezeichnen können.

Beweglichkeit: Trotz sorgfältigster Anstellung der Versuche konnte ich eine Beweglichkeit, wie sie bei fast allen Koli vorkommen soll, häufig nicht konstatieren. Ich bin mir dabei wohl bewußt gewesen, daß die bekannten Schwierigkeiten einer sicheren Auseinanderhaltung von schwacher Eigenbewegung und starker Molekularbewegung auch hier die Entscheidung oft erschwerten. Nichtsdestoweniger ist es auffällig, daß neben 42 beweglichen 31 unbewegliche sich ergaben. Darunter fanden sich

drei, die alle anderen 16 Prüfungen in positivem Sinne zeigten, nur in der Beweglichkeit ließen sie im Stich. Auch diese müßten wohl noch als typisch angesprochen werden. Man kann also sagen, daß die Beweglichkeit ein Faktor ist, dem man kaum sehr große Bedeutung für die Diagnose der Koliarten unter sich beimessen kann.

Auf Drygalskischem Nährboden wuchsen 29 Kulturen typisch rot, 30 dagegen blau; zieht man davon zwei sichere Paratyphus B. und zwei Enteritis-Stämme ab, so bleiben doch 26 Vertreter der Koligruppe übrig, die auf Drygalski blau wuchsen, also fast ebensoviele wie rot, zu denen allerdings noch vier hinzukommen, die als rötlich oder schwach rot erschienen. Zwei Stämme verhielten sich ganz atypisch, nämlich Nr. 7, der in der Mitte blau, am Rande rot, und Stamm 13, der in der Mitte rot und am Rande blau wuchs. Beide Kulturen nahmen nach acht bzw. zehn Tagen vollkommen blaue Farbe an. Die übrigen zehn Stämme waren violett, mit etwas mehr bläulichem oder rötlichem Schimmer, zum Teil auch wechselnd; z. B. nahmen zwei von diesen nachträglich noch blaue Farbe, umgekehrt aber auch ein blauer später violetten Farbton an. Eine Kultur¹⁾ war erst blau, um dann violett und schließlich schmutzig lederbraun zu werden. Fast die Hälfte der Kolistämme ist also auf Drygalski blau gewachsen.

Auf Endoagar hatten 57 Kulturen rote Färbung, dazu kamen noch fünf, die schwach rot waren und zum Teil nach fünf bis acht Tagen intensiv rot wurden, und eine, die als weiß mit schwach rötlichem Schein bezeichnet werden mußte. Ausgesprochen weiß (bzw. farblos) zeigten sich nur acht inkl. vier Paratyphus-Enteritis-Stämme, von denen einer anfänglich etwas rötlich wuchs. Zwei Kulturen waren auch hier ganz atypisch; eine (Nr. 46), die erst schwach rötlich erschien, war nach acht Tagen in der Mitte weiß, am Rande rot, eine andere (Nr. 74) blieb zunächst weiß, zeigte aber nach acht Tagen einen dicken roten Rand. Diese zwei

1) Diese Kultur war auf Agar insofern abweichend, als sie gelbliche Auflage zeigte.

atypischen Stämme entsprechen aber nicht den auf Drygalski atypisch gewachsenen. Auf Endo ist nur ca. der neunte Teil der untersuchten Fälle weiß geblieben.

Der Prozentsatz der für Koli typisch gewachsenen ist also bei Endo höher als bei Drygalski.

Noch mehr ändert sich das Verhältnis zugunsten des Endoagars, wenn man die Stämme nebeneinander stellt, die auf einem Nährboden atypisch, zu gleicher Zeit aber auf dem anderen typisch sich verhielten. Wir haben dann 20 Stämme, die auf Drygalski blau, auf Endo aber rot, neun die auf Drygalski violett oder ganz atypisch wuchsen, auf Endo aber rot, während die zwei oben erwähnten, die auf Endo atypisch waren, auf Drygalski blaue Farbe annahmen. Acht Stämme wuchsen auf Drygalski blau und auf Endo weiß.

Gasbildung: Die Gasbildung in Traubenzuckeragar scheint mir, wie schon anderweitig hervorgehoben, vielleicht das beste Merkmal zur Differenzierung zu sein und in jedem Falle eine Zuteilung des fraglichen Bakteriums zu den »typhusähnlichen« oder »koliähnlichen« zu ermöglichen. Die Untersuchung wurde in der üblichen Weise mit Schüttelkulturen angestellt. 62 Stämme zeigten Gasbildung, die übrigen 13 nähern sich auch in ihrem übrigen Verhalten sehr dem Typhus bzw. dem *B. faecalis alcaligenes*, worauf später noch einmal zurückgekommen werden soll. Da hier der Prozentsatz der erzielten positiven Resultate ein so hoher war, dürfte dieser Prüfung der größte Wert beizumessen sein.

Auch die Reduktion des Neutralrotagars ist in 63 Fällen positiv, allerdings in einer Reihe nur schwach. Zu beachten ist hier jedenfalls, daß die Reaktion nicht immer schon nach 24 Stunden eintritt. Ich habe infolgedessen die Röhren stets nach 24 stündiger Bebrütung im Brutschrank noch 14 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dabei trat in neun Fällen nach acht Tagen, in fünf Fällen nach 14 Tagen erst die Verfärbung zutage, oder die ursprünglich nur ganz schwache Reaktion wurde in dieser Zeit deutlich. Die übrigen zehn Fälle sind mit einer Ausnahme

die gleichen, in denen auch aus Zuckeragar kein Gas gebildet wurde, zwei reduzierten noch in geringen Spuren, auch diese hatten kein Gas gebildet 1).

Die Reduktion des Neutralrots würde ich also ihrer Sicherheit nach auf die gleiche Stufe stellen wie die Gasbildung.

Lackmusmolke: Sehr viel mehr Schwierigkeiten bildet die Beurteilung der Lackmusmolke. Einzelne Autoren legen, wie schon in der Einleitung erwähnt, auf die Trübung der Molke großen Wert, doch wohl kaum mit Recht, da sie bei den einzelnen Stämmen selbst unter sich nicht konstant zu sein scheint. 48 Stämme röteten innerhalb 24 Stunden und veränderten diese Farbe auch während der 14 tägigen Beobachtungsdauer nicht, vier Stämme brachten erst nach 14 Tagen eine Rötung zustande, sechs blauten in 24 Stunden, während fünf dazu drei bis acht Tage brauchten, zehn zeigten schließlich erst eine Rötung, die dann nach fünf bis acht Tagen in deutlich blaue Farbe umschlug. Zu letzteren gehören wiederum die Paratyphus-Enteritis-Bakterien. Das Verhalten in der Lackmusmolke ist also schwer zur Diagnose zu verwenden, da hier alle Übergänge vorkommen.

Milch: Ähnlich verhält es sich mit der Koagulation der Milch. Ihre Bedeutung für die Diagnose steht gleichfalls nur auf sehr schwachen Füßen. 32mal erhielt ich Koagulation, davon dreimal erst nach acht Tagen, dreimal sogar erst nach 14 Tagen. Auch hier ließ ich die Röhren nur 24 Stunden im Brutschrank und dann 14 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Sechs Stämme lösten das Koagulum nach acht bzw. 14 Tagen wieder auf. 42 Kulturen zeigten überhaupt keine Koagulation, und zwar sind darunter auch solche, die sich sonst typisch verhalten haben. Bei dieser Sachlage ist es undenkbar, die

1) Da ich den Eindruck hatte, daß die Stärke der Reduktion größtenteils abhängig sei von der Konsistenz des Neutralrotagars, impfte ich drei verschiedene Stämme in solchen von gewöhnlicher Zubereitung und zugleich in Röhren, die ca. $\frac{1}{4}$ Stunde länger im Autoklaven gestanden hatten. Dabei zeigte sich, daß bei ersteren die Reaktion nach 24 Stunden nur schwach positiv, bei letzteren dagegen vollständige Gelbfärbung eingetreten war.

Koagulation der Milch, die Auspressung eines mehr oder weniger klaren Serums usw., wie es auch empfohlen wurde, als charakteristische Symptome zu betrachten.

G r a m f ä r b b a r k e i t war in keinem Falle vorhanden, ebensowenig wie **S p o r e n b i l d u n g**.

D a s W a c h s t u m a u f S c h r ä g a g a r bot keinerlei wesentliche Merkmale. Auf der Tabelle habe ich vier Abstufungen unterschieden: zart, ziemlich zart, ziemlich üppig und üppig. Wenn auch im allgemeinen die Typhus-Ähnlichen zarter als die anderen wuchsen, so ist doch wohl darauf kein großer Wert zu legen.

K a r t o f f e l w a c h s t u m: Von einer speziellen Untersuchung des Kartoffelwachstums glaubte ich absehen zu können, da bei der Verschiedenheit der Kartoffelarten bekanntlich keine einwandfreien Resultate zu erzielen sind. Selbst wenn alle Stämme am selben Tage geimpft worden wären, hätte man das verschiedene Wachstum kaum zu einer Unterscheidung verwenden dürfen.

G e l a t i n e: Die meisten der oben angeführten Autoren haben Gelatineverflüssigung für ein Zeichen erklärt, das einen Koli unbedingt ausschließt. Zutreffen würde dies nur für das typische *B. coli commune*. Dagegen gibt es mehrere Vertreter der Koli-Gruppe¹⁾, welche Gelatine in kürzerer oder längerer Zeit verflüssigen. Unter meinen Stämmen haben vier Gelatine verflüssigt, davon einer erst nach zehn Tagen. Einer dieser Stämme verhielt sich im übrigen ganz wie ein typischer Koli, zwei allerdings unterschieden sich auch schon dadurch sehr wesentlich von den übrigen Stämmen, als sie auf Schrägagar gelb bzw. braun wachsen. Es unterliegt infolgedessen gar keinem Zweifel, daß ein derartiger Organismus, welcher sonst alle Eigenschaften des Koli aufweist, und nur in geringerer oder stärkerer Gelatineverflüssigung abweicht, diagnostisch als Koli angesehen werden muß.

1) **L e h m a n n - N e u m a n n**, Bakteriologie Diagnostik 1912, 5. Aufl., S. 384 bis 387.

Die Schwefelwasserstoffbildung wurde mit Bleipapier über Kulturen in 1proz. Peptonbouillon geprüft, und zwar nach dreitägigem und 14 tägigem Aufenthalt im Brutschrank. Vier Stämme bildeten überhaupt keinen Schwefelwasserstoff, zwei nur schwach, acht Kulturen, die nach drei Tagen gar keine oder nur schwache Reaktion gezeigt hatten, waren nach 14 Tagen stark positiv.

Die Reaktion auf Indolbildung stellte ich nach drei- und 14tägigem Aufenthalt im Brutschrank an¹⁾. Die 1proz. Peptonbouillonkultur wurde mit zirka der gleichen Menge verdünnter Schwefelsäure versetzt und nach Zugabe von einem Tropfen 0,2proz. Natrium nitrosum erwärmt. Rötung wurde als positiv bezeichnet. Dabei waren auch nach 14tägiger Bebrütung neun Stämme negativ, einer schwach positiv, vier (darunter ein Paratyphus), die anfänglich negativ waren, gaben nach 14 Tagen schwach positive Reaktion, 18 ursprünglich negative wurden nach 14 Tagen stark positiv, bei 17 war die Reaktion nach drei Tagen nur schwach, nach 14 Tagen aber deutlich, während 22 Stämme bereits nach drei Tagen stark Indol gebildet hatten. Will man also ein Urteil über die Indolbildung haben, so muß man unbedingt nach 14 Tagen nochmals die Reaktion ansetzen, da häufig anfänglich negative Stämme dann doch positiven Ausschlag geben. Erwähnen will ich gleich hier, daß von zwei Paratyphusstämmen, die nach drei Tagen beide negativ waren, nach 14 Tagen der eine eine Spur positiv, der andere deutlich positiv wurde, während von den drei Enteritisstämmen einer nach drei Tagen eine Spur positiv war und auch nach 14 Tagen nicht stärker positiv wurde, die beiden anderen aber, die nach drei Tagen auch nur ganz schwache Reaktion zeigten, nach 14 Tagen deutlich Indol gebildet hatten.

Diese Ergebnisse decken sich nicht ganz mit den Resultaten, zu denen S e t e r²⁾ auf Grund seiner umfangreichen Versuche über Indolbildung gekommen war.

1) Die Methode ist genau so ausgeführt wie sie im L e h m a n n - N e u m a n n s c h e n Atlas angegeben ist.

2) S e t e r, Über Indolbildung durch Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 1909, Orig., Bd. 51, S. 465.

Er hatte bei Paratyphus- (Enteritis-), echten Dysenteriebazillen und einigen Pseudodysenteriestämmen niemals eine positive Reaktion beobachtet. »Die Typhusbazillen können geringe Mengen Indol bilden, deren Nachweis aber nur in größeren Kulturmengen durch Destillation gelingt.« (S. auch weiter hinten meine Untersuchungen an den Typhusstämmen.)

Von *B. coli* hatten drei Stämme kein Indol gebildet, doch waren diese auch schon durch ihr sonstiges kulturelles Verfahren etwas von dem gewöhnlichen *B. coli* abweichend.

Die Indolbildung ist also kein Charakteristikum für bestimmte Arten, besonders da, wie später zu ersehen ist, mitunter auch Spuren von Indol bei Typhus vorkommen. Jedenfalls darf aber die Prüfung erst nach 14 Tagen angestellt werden. Denn viele Stämme, die nach drei Tagen noch negatives Resultat geben, werden nach 14 Tagen noch positiv.

Hämolyse: Neben anderen Autoren hat besonders Schuster¹⁾ nachgewiesen, daß die Fähigkeit, Blutfarbstoff zu lösen, nur in wenigen Gruppen als charakteristisches Differenzierungsmittel gelten kann, daß sie aber gerade in der Typhus-Koli-Gruppe äußerst inkonstant ist.

Ich untersuchte trotzdem alle Stämme auf 5proz. Hammelblutagar, wie es von Schuster als am geeignetsten angegeben ist. Dabei fand ich neun Stämme, die, zum Teil erst nach drei Tagen, Hämolyse mehr oder weniger stark zeigten. Da aber diese Stämme sonst keineswegs übereinstimmend waren, kann ich auch diesen Ausschlag nicht als charakteristisch für eine bestimmte Art ansehen, sondern bestätigen, daß die Hämolyse nicht zur Einteilung der Koligruppe in Betracht kommen kann.

Agglutination: Sie wurde geprüft mit Typhus-Immunserum, Paratyphus A u. B- und Gärtner-Immunserum, und zwar jedesmal in einer Verdünnung von

1) Siehe ausführliche Untersuchungen und Literaturangabe bei Schuster, Inauguraldissertation aus dem Hyg. Institut der Universität Gießen, 1910.

1:100. Nur in einzelnen Fällen wurden weitere Verdünnungen herangezogen.

Ein Stamm (Nr. 23), der sich sonst typisch wie Koli verhielt, zeigte Spontanagglutination, er agglutinierte nicht nur mit allen Immunseris, sondern auch mit destilliertem Wasser und physiologischer Kochsalzlösung.

Außer diesem agglutinierten sieben schwach mit Typhus-Immunserum, vier stark (einer von diesen 1:800), obwohl sie alle mehr oder weniger typische Koli waren, jedenfalls aber sicher kein Typhus. Bei drei von den schwach agglutinierenden Stämmen war das Agglutinationsvermögen bei einer fünf Monate später vorgenommenen Nachprüfung verschwunden. Von den mit Typhus-Immunserum agglutinierenden Stämmen agglutinierte einer zugleich mit Paratyphus A-, einer mit Paratyphus B- und einer mit Gärtner-Immunserum. Mit Paratyphus B-Immunserum agglutinierten außerdem noch sechs Stämme, nämlich drei Paratyphus B-Stämme, zwei Enteritisstämme und ein anderer, der aber sicher auch in diese Gruppe gehört. Von diesen zeigt ein Paratyphus noch Typhus-agglutination, die andern fünf Agglutination mit Gärtner-Serum. Der Gärtner-Stamm unserer Sammlung zeigte außer mit Gärtner-Serum noch schwache Agglutination mit Typhus-, aber keine mit Paratyphus-Immunserum. Außer den schon erwähnten agglutinierten mit Gärtner-Serum noch sechs, mit Paratyphus A-Serum noch drei Stämme.

Die Agglutination von Kolistämmen durch andere Immunsere wurde schon oft beschrieben.

B u s s o n ¹⁾ führt z. B. einen Kolistamm an, der aus dem Wasser gezüchtet wurde und als Erreger einer »Typhus«-Epidemie in Betracht kam, der sehr hoch mit Typhus- und Dysenterie-Immunserum agglutinierte, sich sonst aber als Koli erwies. Er bildete aus Traubenzucker Gas, reduzierte Neutralrot, rötete Lackmus, koagulierte Milch in vier bis fünf Tagen, bildete Indol usw.

1) B u s s o n , Über die Mitagglutination durch Immunsere verwandter Arten und deren theoretische und praktische Bedeutung. Zentralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 57, S. 351.

Müller¹⁾ zeigt, daß nicht nur Gruppenagglutinine vorkommen, sondern daß es auch Kolistämme gibt, die durch ganz andere Seren, z. B. Cholera-Immenserum, in hohen Verdünnungen agglutiniert werden.

Schöne²⁾ berichtet über 20 Kolistämme, die aus dem Schwein, und drei, die aus gesunden Menschen gezüchtet waren, die mit Paratyphus A-Serum agglutinierten.

Sobernheim und Seligmann³⁾ beobachteten, daß Gärtner-Serum nur einen Teil der Gärtner-Stämme, oft aber auch Paratyphus B agglutinierte. Dagegen agglutiniert Paratyphus B-Serum niemals B. Gärtner. Beim Fortzüchten gelang es, diese Verhältnisse wesentlich zu ändern, aber auch wieder in die alte Form zurückzuführen.

Amiradzibi⁴⁾ hat Meerschweinchen mit verschiedenen, kulturell nicht differenzierbaren Kolistämmen immunisiert. Die Tiere wurden dann auf den Gehalt des Serums an Agglutininen und Komplement bindenden Antikörpern sowie auf Anaphylaxie gegenüber den verschiedenen Stämmen untersucht. Dabei zeigte sich, daß sie nur mit dem zur Vorbehandlung benutzten Stamme reagierten. Er sagt: Zur Identifizierung des B. coli sind daher alle drei Methoden nicht geeignet.

Es gibt also Kolistämme, die mit einem oder mehreren spezifischen Immenseris agglutinieren, ohne sonst durch biologische Eigentümlichkeiten ausgezeichnet zu sein. Die Agglutination ermöglicht, wie auch aus der Literatur hervorgeht, keine weitere Einteilung der Koliarten. Die

1) Müller, Über Wechselbeziehungen in der Agglutination zwischen B. coli und B. typhi. Zentralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 55, S. 174.

2) Schöne, Über Infektionen mit Paratyphusbazillen des Typus A und Befunde von verwandten Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh., Bd. 65, S. 1.

3) Sobernheim und Seligmann, Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien. Untersuchungen an der Enteritisgruppe. Deutsche med. Wochenschrift 1910, S. 351 (s. dort auch die anderen Arbeiten der gleichen Verfasser).

4) Amiradzibi, Zur Frage der Serodiagnose des B. coli, zugleich ein Beitrag zur Verschiedenheit der Antikörper. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 6, 1910, S. 338.

Agglutination ist aber auch nicht konstant, sondern kann, wo sie vorher vorhanden war, verschwinden, anderseits aber mitunter plötzlich neu auftreten.

b) Typhusstämme.

Ganz in derselben Weise wie die verschiedenen Kolistämme wurden auch die 22 Typhuskulturen den oben genannten 17 Prüfungen unterzogen. Hier wie dort stellten sich eine ganze Reihe von Abweichungen von dem als Regel angegebenen Typus heraus, bei einzelnen Stämmen so deutlich, daß eine kurze Skizze angebracht erscheint.

Auf Drygalski wuchsen alle ausnahmslos blau, auf Endo jedoch einer rot, einer durchsichtig rötlich, einer, der anfangs rötlich war, wurde nach fünf Tagen ebenfalls rot. Drygalski war also durchweg charakteristisch, während Endo drei Ausnahmen zeigte.

Traubenzuckeragar und Neutralrot wurden in keinem Falle verändert.

Lackmusmolke wurde von zwölf Stämmen gerötet, zum Teil allerdings nur schwach, zum Teil auch erst nach 14 Tagen, zwei röteten erst, färbten aber nach acht Tagen den Lackmus blau, während zwei nach acht Tagen ebenfalls blauten, ohne aber vorher gerötet zu haben. Lackmusmolke zeigt also auch bei echtem Typhus verschiedenen Ausschlag.

Milchkoagulation fand sich ausgesprochen in keinem Falle, in drei Fällen jedoch in Spuren angedeutet, also auch nicht durchweg typisch.

Beweglichkeit war überall — ausgenommen einen Fall — deutlich vorhanden. Hier jedoch war die Beweglichkeitsprüfung von allen Nährböden, auch in dem Kondenswasser direkt nach Herausnahme aus dem Brutschrank, negativ.

In der Literatur finden sich bereits mehrere unbewegliche Typhusstämme beschrieben.

Der eine Fall¹⁾ betrifft ein Stäbchen, das von einem Typhus- und Pneumoniekranken aus Stuhl und Sputum isoliert war. Es verhielt sich morphologisch, biologisch und seiner Serumreaktion nach ganz wie Typhus, war aber unbeweglich. In Bouillon und schräg erstarrtem Serum ließ sich eine Beweglichkeit nur sehr schwer und in sehr geringem Grade erzielen.

Ernst²⁾ veröffentlicht Untersuchungen über einen Typhus-Stamm, der erst unbeweglich war und keine Agglutination zeigte, später aber diese Eigenschaften bekam und ein vollwertiges Agglutinin für alle Typhus-Stämme lieferte.

Lorey³⁾ beschreibt ein Stäbchen, das sich auf alle Nährböden wie Typhus verhält, kein Indol bildet, keine Polfärbung hat, keine Eigenbewegung (aber starke Molekularbewegung) zeigt. Im Tierversuch erzeugt es ein an hämorrhagische Septicämie erinnerndes Bild, darum will Verfasser es zur Gruppe der hämorrhagischen Septicämie rechnen. Wenn die Beweglichkeit der einzige Punkt ist, in dem sich das Stäbchen vom Typhus unterscheidet, so dürfte das, wie oben angeführt, nicht ausreichen, um es in eine andere Gruppe zu stellen. Andererseits ist ja bekannt, wie unsicher das Tierexperiment gerade für die Typhus-Koli-Gruppe ist.

Gelatineverflüssigung fehlte stets, ebenso war Gramnegativität in allen Fällen vorhanden.

Das Wachstum auf Schrägagar war in den meisten Fällen zart, in einzelnen aber doch so, daß es auch mit Koli ohne weiteres hätte verwechselt werden können.

Schwefelwasserstoffbildung fehlte in einem Falle, in drei trat sie erst nach 14 Tagen auf.

Indol hatte nach 14 Tagen 16 Stämme, wenn auch nur in Spuren gebildet, nur sechs Stämme blieben ganz negativ, somit waren hier fast $\frac{3}{4}$ der Kulturen atypisch.

1) O. Fischer, Ein unbeweglicher Typhusstamm. Klin. Jahrbuch, Bd. 22, 1909, Heft 2. — 2) Ernst, Über einen anfangs atypischen Typhusstamm. Arbeiten aus dem Institut f. exper. Therapie zu Frankfurt a. M. 1908, Heft 4. — 3) Lorey, Über einen unter dem klinischen Bild des Typhus abd. verlaufenen Krankheitsfall, hervorgerufen durch ein anscheinend der Gruppe der Syst. hämorrh. angehörendes Stäbchen. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh., Bd. 38, 1911, S. 49.

H ä m o l y s e war in keinem der Fälle vorhanden.

A g g l u t i n a t i o n mit Typhus-Immunserum in einer Verdünnung von 1:100 war in allen Fällen vorhanden, wenn auch zwei Stämme (Nr. 84 u. 88) nur sehr schwach, zeitweise sogar gar nicht agglutinierten. Ein Stamm agglutinierte schwach mit Paratyphus B-Immunserum.

Acht Stämme agglutinierten außerdem sehr deutlich mit Gärtner-Immunserum in einer Verdünnung von 1:100, vier schwach, so daß also im ganzen mehr als die Hälfte der untersuchten Fälle gleichzeitig mit Typhus- und Gärtner-Immunserum agglutinierten. Einer von diesen Stämmen (Nr. 85) zeigte merkwürdigerweise im Aqua dest. sehr deutlich Agglutination, nicht dagegen in physiologischer Kochsalzlösung, auch nicht mit Paratyphus A- oder Paratyphus B-Immunserum.

Daß Gärtner-Immunserum auch Typhusbakterien agglutiniert, haben schon R i m p a u¹⁾ und L e b r u n²⁾ bewiesen.

c) Gruppierung der Stämme.

Jeder Untersucher hat gewiß bei der Isolierung von Koli-Typhus-Stämmen die Schwierigkeit empfunden, sie in systematischer Beziehung einzureihen. Die Schwierigkeiten sind nicht zu verkennen, weil es unmöglich erscheint, die einzelnen Organismen entweder strikte dem Koli- oder dem anderen Extrem, dem Typhus, anzugliedern. Die Praxis hat uns aber gelehrt, auch unter den Zwischenformen verschiedene Typen als einigermaßen konstant aufzuführen, wie z. B. Paratyphus, B. faecalis alcaligenes usw. Man muß daher zunächst versuchen, alle neu gefundenen Stämme den bekannten Typen beizufügen.

Die hauptsächlichsten Typen, welche in Frage kommen, sind folgende.

1) R i m p a u, Mitagglutination für Typhus bei Infektion mit B. enteritidis Gärtner. Münch. med. Wochenschrift 1909, S. 1843.

2) L e b r u n, Über Agglutination von Typhusbazillen durch spez. Gärtner-serum. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh. 1909, Bd. 64, Heft 3, S. 411.

Tabelle I.

	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit	Färbbarkeit nach Gram	Gelatine- verflüssigung	Schwefelwasser- stoffbildung	Indolbildung
<i>B. typhi</i>	blau	farblos	—	—	schwach sauer	—	+	—	—	+	—
<i>B. dysenteriae</i>	blau	farblos	—	—	+ später blau	—	—	—	—	+	wechselnd
<i>B. faecalis alcaligenes</i>	stark blau	farblos	—	—	blau	—	+	—	—	+	—
<i>B. enteritidis</i>	blau	farblos	+	+	erst + dann blau	—	+	—	—	+	—
<i>B. paratyphi B.</i>	blau	farblos	+	+	erst + dann blau	—	+	—	—	+	—
<i>B. paratyphi A.</i>	blau	farblos	+	+	+	—	+	—	—	+	—
<i>B. coli</i>	rot	rot	+	+	+	+	+	—	—	+	+

Zum Typus des Typhus würden demnach alle die Stämme gehören, die im zweiten Teile besprochen worden sind. Unter diesen ist eine ganze Reihe, die in einem oder mehreren Punkten von den für Typhus aufgestellten Forderungen abweichen. Diese Punkte waren: Rötung des Endoagars, die zum Teil ausgesprochene Rötung und Bläuung der Lackmusmolke, Spuren von Koagulation der Milch, üppigeres Wachstum auf Agar, Spuren von Indolbildung, zeitweiliges Fehlen der Agglutination, sowie Mitagglutination mit anderen Seris, speziell Gärtner-Serum, schließlich in einem Falle Fehlen der Beweglichkeit.

Trotzdem stehe ich nicht an, sie alle als »Typhus« zu bezeichnen, da sie in wesentlichen Punkten mit echtem Typhus übereinstimmen.

Als dem Typhus nahestehend sind vier Stämme zu betrachten, nämlich Nr. 34, 66, 68, 69.

Stamm 34, der aus Scheidensekret stammt, wuchs auf Drygalski blau, auf Endo aber rot, rötete auch in 24 Stunden Lackmusmolke, war auf Schrägagar ziemlich üppig, bildete keinen Schwefel-

wasserstoff, verhielt sich aber sonst ganz wie Typhus, allerdings ohne mit Typhus-Immenserum zu agglutinieren. Ich möchte daher bei diesem Stamme jedenfalls an die Möglichkeit denken, daß es doch Typhus ist, der unter anderen Lebensbedingungen seine Agglutination verloren hat.

Stamm 66, der ebenfalls aus Scheidensekret stammt, war auf Drygalski blau, auf Endo gleichfalls rot gewachsen, auch er rötet Lackmus, wenn auch etwas langsamer, und bildete keinen Schwefelwasserstoff. Auf Schrägagar wächst er vollkommen zart, typhusartig, verflüssigt aber Gelatine. Hämolyse war positiv.

Stamm 68 u. 69 sind aus Galle vom gleichen Patienten gezüchtet. Sie unterscheiden sich nur darin, daß 68 schwach mit Typhus-Immenserum, 69 dagegen mit Paratyphus A-Serum agglutinierte. Im übrigen röteten auch sie Endoagar und Lackmus, letzteres aber erst nach acht Tagen. Beide zeigten nach drei Tagen schwache Hämolyse, sie wuchsen auf Agar schleimig, fast friedländerartig, auch im mikroskopischen Präparat zeigten sie mitunter Schleimhüllen.

Auch diese Stämme können vielleicht noch als veränderte Typhus-Stämme angesehen werden.

Etwas mehr weichen die Stämme 53, 65, 67, 72 u. 74 ab.

Nr. 53 stammt auch aus Galle, er wächst auf Drygalski blau, nach acht Tagen aber violett, auf Endo rot, Lackmus wird aber stark blau gefärbt. Ebenso verhält sich Nr. 67, aus Scheidensekret gezüchtet, wenn hier auch das Wachstum auf Drygalski ausgesprochener blau war, und Nr. 72, aus Galle isoliert, nur daß beide letzteren auch Indol bildeten. Nr. 74, aus Stuhl stammend, wuchs auf Endo erst weiß, bildete dann aber einen dicken roten Rand, Lackmus wurde erst gerötet, die Rötung schwand dann aber. Auch er bildete Indol, er zeigte Agglutination mit Gärtner-Serum. Nr. 65 bläute Lackmus sehr stark, wuchs auch auf Endo farblos, bildete aber auch Indol.

Letzterer dürfte also wohl als *B. faecalis alcaligenes* betrachtet werden, trotz Indolbildung; die anderen sind ebenfalls Alkalibildner, doch reicht dies allein nicht aus, um sie als echte *B. faecalis alcaligenes* zu bezeichnen. Sie müßten wohl als Zwischen-

stufen zwischen atypischem Typhus und atypischem *B. faecalis alcaligenes* angesehen werden.

Ihren biologischen Eigenschaften nach müßte man den eben besprochenen die Nr. 70, 73, 75 angliedern. Doch wachsen diese Stämme auf Schrägagar teils gelb, teils braun und verflüssigen Gelatine. Ob aber solche Merkmale allerdings ausreichen, um sie als nicht in diese Gruppe gehörig anzusehen, lasse ich dahingestellt.

Zur Paratyphus-Enteritis-Gruppe gehören Nr. 44, 49, 59, 60, 62, 63, 64. Von diesen Stämmen hat einer Milch koaguliert (60), einer ist auf Endo rot gewachsen (49), einer rötlich (44); alle haben mehr oder weniger stark Indol gebildet, zwei haben Lackmus gerötet, ohne zu bläuen, einer hat außer mit Paratyphus B- auch mit Typhus-Immuneserum, die anderen fünf mit Paratyphus B- und Gärtner-Immuneserum agglutiniert. Jener ist also wohl trotz Rötung des Endoagars als Paratyphus B anzusprechen, obwohl er auch Lackmus nur gerötet, nicht gebläut hat, bei den anderen wäre eine Entscheidung, ob es sich um Paratyphus B oder *B. enteritidis* Gärtner handelt, nur durch Austitrieren möglich.

In die Nähe der Paratyphus-Enteritis-Gruppe dürften all die Stämme zu stellen sein, die in Traubenzucker Gas bilden, Neutralrot reduzieren, Milch nicht koagulieren, im übrigen nach längerer oder kürzerer Zeit Alkali bilden. Es wären dies dann: Nr. 45, 47, 48, 55, 61, 71. Von diesen wäre Nr. 55 als erster zu nennen, da er nur in der Indolbildung und Agglutination abweicht. Indolbildung war nach drei Tagen positiv, Agglutination nur mit Paratyphus A-Immuneserum vorhanden. Lackmus wurde nach anfänglicher Rötung nach acht Tagen blau gefärbt. Ähnlich verhielt sich Stamm 61, dessen Indolbildung erst nach 14 Tagen auftrat, der Lackmus, ohne es vorher zu röten, nach acht Tagen bläute, der aber auf Endo allmählich vollkommen rot wurde. Agglutination zeigte dieser Stamm schwach mit Typhus-Immuneserum. Nr. 71 bläute Lackmus bereits nach 24 Stunden, wuchs aber auf Endo rot, Indolbildung war nach drei Tagen, Agglutination überhaupt nicht vorhanden. Dieser Stamm zeigte übrigens deutliche Hämolyse.

Gerade ebenso, mit Ausnahme der Hämolyse, verhielt sich Nr. 45, nur daß Lackmusmolke erst nach acht Tagen, aber auch ohne vorhergegangene Rötung blau gefärbt wurde. Etwas weiter von diesem Typus entfernen sich Nr. 47 u. 48, die aus Stuhl des gleichen Patienten gezüchtet sind. Beide wuchsen auf Endo rot, beide färbten Lackmusmolke nach anfänglicher Rötung (47 allerdings nur schwacher Rötung) nach acht Tagen stark blau, um ihr dann später einen violetten Farbton zu geben, 48 bildete nach drei Tagen kräftig, 47 nach 14 Tagen nur schwach Indol, 47 reduzierte aber Neutralrot überhaupt nicht, 48 erst nach 14 Tagen schwach.

Den Übergang von dieser Gruppe zum echten Koli bilden die, welche Milch nicht koagulieren, sonst aber nur Säure bilden, andererseits solche, die zwar Milch zur Koagulation bringen, sonst aber Alkalibildner sind. Außer diesen wären vor dem wirklich typischen Koli auch noch Stämme mit einigen anderen Abweichungen zu nennen.

Außer Nr. 44 u. 49, die schon unter der Paratyphus-Enteritis-Gruppe behandelt worden sind, die durch Agglutination in diese Gruppe gerechnet werden mußten, brachten noch 17 Stämme, die in Traubenzucker Gas erzeugten, Neutralrot zur Reduktion, röteten Lackmusmolke und brachten Milch nicht zur Koagulation. Von diesen verhielten sich 15 Stämme vollkommen gleich, sie wuchsen auf Drygalski und Endo rot, unterschieden sich höchstens durch die schnellere oder langsamere, stärkere oder schwächere Neutralrotreduktion und Indolbildung, doch war sie nach 14 Tagen bei allen positiv. Ein Stamm von diesen zeigte Agglutination mit Typhus-Immunserum, einer mit Typhus- und Paratyphus A-, einer mit Gärtner-Immunserum, einer zeigte Hämolyse. Von den beiden letzten Kulturen wächst eine auf Drygalski violett, die andere blau, auf Endo beide rot. Erstere zeigte Hämolyse und agglutinierte mit Typhus-Immunserum, letztere mit Gärtner-Serum.

Solche Stämme, die Milch zur Koagulation brachten, Lackmusmolke aber blau färbten, sind nur noch zwei zu erwähnen. Zurückweisen möchte ich aber noch auf Nr. 75, den ich in die Nähe der Typhus-Gruppe gestellt habe, und 60, den ich trotz der Milchkoagulation zur Paratyphus-Enteritis-Gruppe zählen zu müssen glaubte.

Nr. 30 ist aus Blut isoliert, er wuchs auf Endo weiß und Drygalski blau, bläute Lackmusmolke nach vorheriger Rötung in acht Tagen und brachte Milch nach acht Tagen in Spuren zur Gerinnung.

Nr. 31 wuchs dagegen auf Endo schwach rot, Lackmusmolke wurde gleich schwach blau, nach fünf Tagen stark blau gefärbt, Milch nach fünf Tagen vollkommen zur Gerinnung gebracht. Indolbildung war bei beiden nach drei Tagen schwach, nach 14 Tagen stark positiv. Beide verflüssigen Gelatine.

Es fehlen dann jetzt die Stämme, die sich auf der Serie, d. h. im Traubenzuckeragar, Neutralrot, Lackmusmolke und Milch so wachsen, wie es für Koli vorgeschrieben ist, sich aber sonst in einem oder mehreren Punkten abweichend verhalten, die also dem echten Koli sehr nahe stehen.

Am häufigsten findet sich das Fehlen von Rötung auf Drygalski, und zwar als einziger Punkt bei Nr. 20 u. 24, die beide blauviolett wuchsen, und Nr. 18, der erst violett, nach drei Tagen aber blau wurde, Nr. 5 wuchs blau, auf Endo aber gleichfalls weiß mit nur schwach rötlichem Schein.

Nr. 7 war auf Drygalski in der Mitte blau, am Rande rot, nach acht Tagen aber ganz blau, außerdem fehlte Indolbildung.

Nr. 13, der im Gegensatz zu diesem in der Mitte rot und am Rande blau war, wies nach zehn Tagen gleichfalls durchweg blaue Färbung auf. Er verflüssigte aber Gelatine.

Nr. 17 wuchs auf Drygalski erst blauviolett, nach acht Tagen blau, er bildete kein Indol und agglutinierte mit Paratyphus B-Immunserum.

Nr. 11, der auf Drygalski violett mit bläulichem Schimmer erschien, zeigte Hämolyse und agglutinierte mit Gärtner-, nach fünf Monaten auch mit Typhus- und Paratyphus-Immunserum.

Bei den übrigen Stämmen beziehen sich die Abweichungen nur auf die Agglutination, und zwar war diese bei Nr. 6 mit Typhus-, Nr. 14 mit Typhus- und Gärtner-, Nr. 21 mit Gärtner-, Nr. 22, der übrigens auch Hämolyse zeigte, ebenfalls mit Gärtner-Immunserum positiv. Bei Nr. 15 u. 16, bei denen die Agglutination mit Typhus-

Immunserum ursprünglich positiv gewesen war, wurde sie nach einigen Monaten negativ. Nr. 23 zeigte Spontanagglutination.

Die Stämme 25 bis 29 lösten nach 8 bis 14 Tagen das Koagulum der Milch wieder auf. Nr. 27 bildete außerdem keinen Schwefelwasserstoff.

Es bleiben dann nur sieben Stämme als typische *B. coli commune* übrig.

Zur Illustration der Verschiedenheit der Koli-Stämme seien noch einige Beispiele von Kulturen, die aus demselben Patienten zur gleichen Zeit isoliert wurden, angeführt. Denn es dürfte von Interesse sein, zu sehen, daß nicht nur, wie bekannt, bei einem Menschen mehrere verschiedene Stämme gefunden werden, sondern daß auch häufig solche vorkommen, die in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen, aber doch einzelne geringe Abweichungen zeigen.

Ich verweise zunächst auf Nr. 2, 14, 54, 61, die alle aus Stuhl vom gleichen Patienten isoliert sind. Nr. 2 u. 14 verhielten sich beide als typische Koli. Während aber Nr. 2 keinerlei Agglutination zeigte, agglutinierte Nr. 14 mit Typhus-Immunserum noch deutlich in einer Verdünnung von 1:800. Ebenso agglutinierte Nr. 61 schwach mit Typhus-Immunserum in einer Verdünnung von 1:100, während Nr. 54 dies nicht tat. Diese beiden Stämme koagulierten Milch. Lackmusmolke wurde aber von Nr. 54 gerötet, von Nr. 61 blau gefärbt.

Auch von den Stämmen 3, 16, 45, die ebenfalls aus dem Stuhl eines Patienten isoliert sind, unterscheiden sich 3 u. 16 nur dadurch, daß 16 schwache Agglutination zeigt und Indol in drei Tagen nur in Spuren, nach 14 Tagen allerdings auch deutlich bildet.

Noch auffälliger ist es bei Nr. 6 u. 15, von denen 6 in drei Tagen, 15 erst nach 14 Tagen Indol bildet, oder bei 7, 37, 55, 56, von denen 37 u. 56, die beide Milch nicht koagulieren und Lackmus röten, sich auch nur durch die Zeit der Indolbildung unterscheiden, während 7, der Indol auch erst nach 14 Tagen bildet, Drygalski bläut und Milch koaguliert, während wieder 55 Drygalski blau, auch Endo weiß färbt, Indol nach drei Tagen bildet, aber Milch nicht koaguliert.

Stamm 57 u. 58 unterscheiden sich außer der verschiedenen Dauer der Indolbildung auch dadurch, daß der eine Stamm längere Zeit zur Reduktion des Neutralrots benötigt, während bei 47 u. 48 zu dem Unterschied der Indolbildung noch hinzukommt, daß 47 Neutralrot überhaupt nicht, 48 aber nach 14 Tagen schwach reduziert.

Eine exakte Einteilung der Typhus-Koligruppe in einzelne Arten ist also nicht möglich.

Diese Ansicht wurde auch schon von anderen Autoren ausgesprochen.

Greif¹⁾, der 120 »typhusähnliche« Stämme untersucht hat, will allerdings 14 verschiedene Gruppen unterscheiden, doch dürfte sich das kaum aufrecht erhalten lassen.

Dagegen sagt Burk²⁾, der 139 Stämme von 68 Patienten untersuchte:

Es zeigt sich, daß sich unsere Erwartung, die untersuchten Koli-Stämme auf Grund morphologischer und kultureller Merkmale in einige Unterabteilungen bzw. Arten oder Spielarten scharf zu trennen, nicht erfüllt.

Rimbaud und Rubinstein³⁾ isolierten von zehn Personen, die gesund waren oder wenigstens keine Anzeichen von Typhus boten, 23 Varietäten von Bazillen. Darunter fanden sich solche, die Typhus, Paratyphus B und Paratyphus A und B. coli nahestanden, aber alle möglichen Varietäten bildeten. Sie bezeichnen alle Stämme als Übergangsstämme und glauben, daß diese Resultate ein neuer Beweis für die Theorie seien, daß der Typhusbazillus ein modifizierter Koli-Bazillus ist.

1) Greif, Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh., Bd. 54, S. 201.

2) Burk, Untersuchungen über Bakterien der Koligruppe. Zeitschr. f. Bakt., Bd. 45, S. 577.

3) Rimbaud und Rubinstein, Recherches bacteriologiques sur les matières fécales. Études des bacilles de la famille Coli-Eberth. Arch. de méd. expérim. et d'anatom. pathol. T. 21 1909, Nr. 2, p. 126.

Archiv für Hygiene. Bd. LXXVI.

V a l l e t und R i m b a u d⁴⁾ stellten dann fest, daß derartige Übergangsformen beim Hunde die Regel bildeten. Sie konnten »unendliche Varietäten der Charaktere« feststellen. In bezug auf eine Einteilung unterscheiden sie zwischen solchen, die sich bekannten Typen nähern, und solchen, die gar keine Klassifizierung gestatten. Sie werfen die Frage auf, ob das nicht ein Zeugnis für den Entwicklungsprozeß gebe, »der den Koli-Bazillus in den Typhus-Bazillus umwandelt«.

Ergebnisse.

Von den 17 Prüfungen, denen alle 97 Stämme der Typhus-Koli-Gruppe unterworfen wurden, sind also nur recht wenige imstande, eine weitere Einteilung dieser Gruppe in einzelne Unterabteilungen zu ermöglichen.

Am besten haben sich T r a u b e n z u c k e r a g a r und N e u t r a l r o t a g a r bewährt, da sich alle Stämme, die in die Nähe des Typhus bzw. *B. faecalis alcaligenes* gehören, ausnahmslos auf diesen beiden Nährböden negativ verhalten.

Zur Unterscheidung der beiden Extreme, des Typhus und des *Coli commune*, sind auch der D r y g a l s k i s c h e Nährboden und der E n d o a g a r v o r z ü g l i c h. Es gibt jedoch eine Reihe von Koli-Stämmen, deren Verhalten auf diesen Medien nicht ihren sonstigen biologischen Eigenschaften entspricht.

Das Wachstum in der Lackmusmolke erlaubt nur eine Unterscheidung der Säure- und Alkalibildner. Da aber beide sowohl bei Typhus und Koli als auch bei allen Zwischenformen vorkommen kann, so kann die Lackmusmolke keinen wesentlichen Einfluß auf eine Einteilung der Koli-Arten ausüben.

Ebensowenig ist dazu die M i l c h - K o a g u l a t i o n imstande, da beim Typhus mitunter Spuren von Gerinnung auftreten können, beim Koli diese aber vollkommen fehlen kann.

Der B e w e g l i c h k e i t kann keinerlei ausschlaggebende Bedeutung für die Bestimmung einer Art zugesprochen werden,

⁴⁾ V a l l e t et R i m b a u d, Les bacilles intermédiaires de la famille *Coli-Eberth*. Arch. de méd. expér. et d'anatom. pathol. T. 22, 1910, Nr. 2.

gleichfalls nicht dem Wachstum auf Schrägagar, der Bildung von Schwefelwasserstoff und Indol sowie der Fähigkeit, Blutfarbstoff zu lösen.

Gelatineverflüssigung kommt auch bei Stämmen vor, die sich sonst typisch als Koli erweisen.

Die Agglutination ist zur Bestimmung der Art am wesentlichsten, jedoch nur, wenn ein Stamm nur mit einem Immuneserum agglutiniert. Jedenfalls muß die Höhe der Verdünnung des Serums entscheiden. Es gibt jedoch Fälle, bei denen auch die Agglutination gänzlich versagt; zu einer Einteilung der Koli unter sich ist die Agglutination vollkommen ungeeignet.

Die Resultate der Untersuchungen zeigen uns weiter, daß die aus pathologischen Prozessen gezogenen Koli in bezug auf die Prozentzahl der »typischen« vor den an anderen Orten gefundenen keinerlei Vorzug genießen. Bei weitem die meisten waren atypisch.

Demnach verhalten sich alle Koli-Arten gleichmäßig, ob sie nun aus Wasser, aus normalem Stuhle oder pathologischen Prozessen isoliert sind, und müssen nach den gleichen Eigenschaften beurteilt werden.

Bei dem Versuch, die isolierten Stämme einer weiteren Einteilung zugänglich zu machen, stellten sich Schwierigkeiten erheblicher Art entgegen, da fließend alle Übergänge vom Typhus zum Paratyphus und B. enteritidis bis zum B. coli commune bestehen. Wir verfügen zurzeit noch nicht über Differenzierungsmöglichkeiten, die uns gestatten würden, die charakteristischen Eigenschaften jeder Art sicher vor Augen zu führen, so daß auf Grund der bestehenden Reaktionen eine Einteilung möglich wäre. Danach würden wir nur an einer »Typhus-Koli-Gruppe« festzuhalten haben, deren eines Extrem eben als Typhus, deren anderes Extrem als B. coli commune bezeichnet wird. Wir müssen dann aber zugeben, daß auch diese beiden Extreme keine fest umschlossenen Begriffe sind, sondern daß auch innerhalb dieser Bezeichnungen verschiedene Modifikationen vorkommen.

Diese Unmöglichkeit einer Einteilung dürfte aber in zweiter Linie bedingt sein durch den Wechsel biologischer Eigenschaften

der einzelnen Stämme, die durch diese Untersuchungen sehr wahrscheinlich gemacht (s. z. B. Agglutination), durch andere Punkte, die im zweiten Teile behandelt werden, aber wohl sicher gestellt sind.

II.

Das Verhalten der Organismen im Wasser.

Nachdem wir im vorausgegangenen feststellen konnten, daß auch die aus pathologischen Fällen gezüchteten Koli-Arten sehr viel mehr atypisch als typisch auftraten, so interessierte nun die weitere Frage, ob diese Stämme in anderen ungünstigen Lebensbedingungen, also z. B. im Wasser auf die Dauer die ursprünglichen Eigenschaften bewahren würden. Mein Plan ging dahin, die aus dem Menschen isolierten Kulturen in Wasserproben zu übertragen und die biologischen Eigenschaften in gewissen Zwischenräumen zu prüfen.

Ich griff deshalb 45 Stämme heraus und impfte sie derart ab, daß jedesmal ca. zwei kleine Ösen voll Kultur in ca. 10 ccm sterilen Wassers gebracht wurden. Diese Stämme untersuchte ich zunächst jede Woche einmal während fünf Wochen, dann nur jede zweite Woche bis zur 15. Woche, im ganzen also zehnmal, auf Traubenzuckeragar, Neutralrotagar, Lackmusmolke und auch auf Milch, obwohl die Koagulation, wie anfangs erwähnt, nicht sehr maßgebend erschien.

Um die Versuche möglichst gleichmäßig zu gestalten und nicht etwa durch Verimpfen verschiedener Kulturmengen falsche Resultate zu erhalten, wurde so verfahren, daß jedesmal der Bodensatz aufgerührt und dann drei große Ösen der Emulsion in das fragliche Röhrchen gebracht wurden. Von Zeit zu Zeit, besonders auch nach auffallenden Resultaten, wurde die betreffende Kultur auf ihre Lebensfähigkeit und Reinheit geprüft. Die Resultate wurden jedesmal nach 24 stündiger Bebrütung im Brutschrank bei 37° abgelesen, dann bei Zimmertemperatur nach 8 und 14 Tagen kontrolliert und etwaige Änderungen notiert.

Die ausführlichen Tabellen folgen am Schluß der Arbeit.

Aus diesen ist zu entnehmen, daß sämtliche Stämme im Laufe der Untersuchungen sich veränderten, nur ein einziger hielt sich während der ganzen Untersuchungsdauer unverändert auf allen Nährböden. Es ist dies Nr. 7. Er hatte von Anfang an kein Gas aus Traubenzuckeragar gebildet, Neutralrot nicht reduziert, Milch nicht zur Gerinnung gebracht, Lackmusmolke erst nach acht Tagen gerötet und diese Eigenschaften niemals verändert. Weniger auffallend wird allerdings die Tatsache, daß dieser Stamm als einzige Ausnahme konstant geblieben ist, wenn man bedenkt, daß er auf allen Nährböden negativ war. Wie weiter unten ausgeführt werden soll, ist es aber sehr viel seltener, daß ursprünglich nicht vorhandene Eigenschaften hinzukommen, als daß vorhandene verloren gehen. Andererseits ist gerade das Verhalten in der Lackmusmolke durchweg am allergeleichmäßigsten geblieben.

Alle anderen Stämme haben während der Beobachtungszeit auf einem oder mehreren Nährböden in mehr oder weniger ausgesprochener Form Veränderungen gezeigt, und zwar ist, wie ich gleich vorwegnehmend erwähnen will, eine Regelmäßigkeit nur in dem Verhalten zur Lackmusmolke vorhanden, während die Reaktionen auf den anderen Nährböden häufig ohne erkennbaren Grund gewechselt haben.

Den meisten Schwankungen unterworfen war wohl das Verhalten zur Milch. 27 Stämme haben Milch koaguliert und mitunter keinerlei Koagulation zustande gebracht, bei zwei Stämmen schwankte die Gerinnung der Stärke und der Zeit nach, in der sie sichtbar wurde. Die Mehrzahl dieser Fälle betrifft solche Kulturen, die ursprünglich Milch zur Koagulation brachten, später aber mitunter negativ wurden, ohne aber negativ zu bleiben, vielmehr unregelmäßig einmal Milch koagulierten, ein anderes Mal nicht. Etwas anders war Nr. 25. Dieser zeigte ursprünglich keine Koagulation, brachte dann aber mit einer Ausnahme Milch stets zur Gerinnung, und die Nr. 16, 17 u. 26, von denen ersterer einmal, die beiden anderen zweimal Milch koagulierten, während sie dies ursprünglich auch sonst während der Beobachtungszeit nicht taten.

Alle die Stämme, die sich zur Milch während der ganzen Zeit gleichmäßig verhielten, waren solche, die keine Koagulation hervorbrachten. Von denen, die ursprünglich koagulierten, war keiner, der diese Eigenschaft regelmäßig gezeigt hätte.

Die Zusammenstellung ergibt, daß, wie schon im ersten Teil darauf hingewiesen wurde, nicht die Möglichkeit besteht, auf die Koagulation der Milch einen bindenden Wert zu legen, wenigstens nicht bei der jetzt üblichen Verwendung der Milch als bakteriologisches Differenzierungsmittel.

Der Grund für diese Tatsache dürfte in folgendem zu suchen sein :

Daß die Milch, je nach der Rasse der Kühe, dem Alter und dem Ernährungszustand derselben, dem Futter usw., sehr verschieden sein kann, scheint ebenso selbstverständlich wie, daß die Art der Zubereitung und Sterilisation selbst bei großer Aufmerksamkeit doch geringe Verschiedenheiten aufweist, die bei einem chemisch so kompliziert aufgebauten Körper, wie es die Milch ist, Änderungen in ihrer Zusammensetzung hervorrufen müssen. Doch glaube ich, daß diese Punkte von untergeordneter Bedeutung sind gegenüber dem Zeitunterschied, der jedesmal zwischen Melken und dem Zubereiten verflossen ist. In dieser Zeit haben die verschiedensten Bakterien bereits Gelegenheit gehabt, die Milch zu zersetzen. Es ist bereits eine größere oder kleinere Menge Säure gebildet, so daß nur noch eine bestimmte, aber in jedem Falle verschieden große Menge Säure nötig ist, um die Koagulation in Erscheinung treten zu lassen. So kann es dann kommen, daß einmal ein Stamm, der reichlich Säure entwickelt, doch noch keine Gerinnung hervorbringt, ein anderes Mal aber ein anderer mit viel geringerer Säurebildung Koagulation zeigt.¹⁾

Ganz ähnlich wie mit der Koagulation verhielt es sich mit der Fähigkeit, das Koagulum wieder aufzulösen. Wie aus der Tabelle ersichtlich, haben eine ganze Reihe von Stämmen einmal oder

1) Diese Erklärung ist zunächst nur Vermutung. Genaue dementsprechende Untersuchungen sind im Institut in Aussicht genommen.

mehrere Male das Koagulum wieder gelöst, ohne daß sich aber auch hier irgendeine Regelmäßigkeit erkennen ließe.

Fast ebenso verschieden wie in der Milch ist das Verhalten der einzelnen Stämme zu dem Neutralrot, obwohl es sich doch hier um einen Nährboden handelt, der künstlich zusammengesetzt wird, der also als gleichmäßig angesehen werden kann. Zwölf Stämme gaben bald positive bald negative Reaktion, 27 schwankten in der Zeit und der Stärke, mit der die Reduktion auftrat.

Diejenigen, die stets gleichmäßig blieben, sind auch hier solche, die negativ waren, die also niemals auch nur Spuren von Reduktion zeigten. Die Mehrzahl der veränderlichen Stämme waren wieder solche, die eigentlich positiv waren, die aber mitunter nur schwache oder verzögerte Reaktion zeigten.

Sollte dieses Fehlen der Reduktion bzw. auch die Verzögerung und die Abschwächung auf einer Schwächung oder sonstigen Veränderung der Stämme beruhen, so müßte bei allen Stämmen erst die Reaktion stark gewesen sein und dann allmählich bis zu einem Minimum abnehmen. Läge die Schuld daran aber am Nährboden, so müßte die Veränderung wahrscheinlich nicht zunehmen, sondern unregelmäßig sein, dagegen am gleichen Tage bei allen oder wenigstens einer großen Anzahl von Stämmen zutreffen.

Aus der Tabelle ist nun zu ersehen, daß von der ersten Annahme nichts zutrifft, die zweite dagegen in vollem Maße. Besonders auffallend ist, daß beim letztenmal bei fast allen Stämmen, auch bei denen, die zeitweise sehr verzögerte und schwache, zum Teil sogar negative Reaktion gezeigt hatten, wieder sehr ausgesprochene Reduktion bis zur völligen Gelbfärbung vorhanden war. Nun bestand zwar in der Herstellung des Nährbodens keinerlei Unterschied, mitunter hatten die Röhren aber schon 8 oder auch 14 Tage gestanden, ehe sie gebraucht wurden, waren also wohl etwas trockener, gerade beim letztenmal aber war der Agar besonders weich. Ich glaube daher, daß Weichheit des Agars die Schnelligkeit und Stärke der Reaktion begünstigt, und daß der Unterschied nur in der verschiedenen Konzentration des Agars zu suchen ist. Bei flüssigerem Agar kann vielleicht die gebildete

Säure sich schneller und gleichmäßiger verteilen und dadurch eine deutlicher Reaktion hervorbringen.¹⁾

Schwerer ist das Verhalten auf Traubenzuckeragar zu erklären. Daß auch hier die Härte des Agars eine gewisse Rolle spielt, konnte ich auch das letztmal feststellen, wo der gleiche weiche Agar wie für Neutralrot für diesen zur Verwendung gekommen war. Ich hatte damals bei 18 Stämmen, die sonst positiv waren, negatives Resultat, bei gleich angestellter Kontrolle in härterem Agar, sowie auch mit demselben Agar, nachdem er acht Tage lang gestanden hatte, aber wieder positives Resultat. Dies ist möglicherweise so zu erklären, daß bei zu weichem Agar das gebildete Gas ausgedrückt wird und entweicht, der Agar aber wieder zusammensinkt und nun den Eindruck macht, als ob überhaupt kein Gas gebildet sei.

Diese Erklärung kann aber für die anderen Fälle nicht zutreffen, da nicht gleichmäßig am selben Tage sonst positive Stämme negativ waren, besonders aber auch, da in einigen Fällen sonst negative Stämme einmal Gas gebildet hatten. Im ganzen waren derartige Abweichungen in neun Fällen, und zwar in sieben, in denen sonst Gasbildung vorhanden war, fehlte sie ein- oder zweimal, in zwei, in denen sie sonst fehlte, trat sie vorübergehend auf. Außerdem schwankte in 13 Fällen die Stärke der Gasbildung.

Die Unregelmäßigkeit, mit der diese Veränderungen auftraten, spricht wohl auch für Verschiedenheiten des Nährbodens. Die Tatsache aber, daß nicht gleichmäßig am gleichen Tage das Fehlen oder Neuauftreten der Gasbildung zu beobachten war, spricht dagegen. Eine Erklärung scheint mir nicht leicht gegeben werden zu können.

Ganz anders hat sich die Lackmusmolke verhalten. Fast alle Stämme, die Lackmusmolke einmal gerötet haben, haben diese Eigenschaft während der ganzen Zeit unverändert beibehalten. Bei den anderen Stämmen, die eine Veränderung zeigen, scheint aber eine bestimmte Regel zu bestehen. Hervorzuheben wäre aber doch, daß auch hier in einzelnen Fällen kleine Unter-

1) Vgl. hierzu den im ersten Teil erwähnten Kontrollversuch.

schiede in der Zeit, in der die Rötung auftrat, und auch in der Intensität derselben vorhanden waren, daß aber andere absolut konstant darin waren, z. B. war die Rötung bei einzelnen jedesmal erst nach acht Tagen sichtbar.

Die Änderung, die beobachtet wurde, betraf die Stämme, die Lackmus bläuten. Bei allen diesen trat im Laufe der Zeit erst eine Rötung auf, die dann nach 8 oder 14 Tagen in blauen Farbton verwandelt wurde, und zwar blieb meist zum Schluß auch die Zeit, nach der die Bläuung auftrat, gleichfalls konstant. Häufig ging die Änderung allmählich, indem zunächst die Blaufärbung hinausgeschoben wurde, zunächst also gar keine Reaktion sichtbar war, dann zunächst ein schwach positiver Ausschlag mit Umschlag in Blau auftrat, schließlich aber erst die Reaktion deutlich rot, dann deutlich blau wurde.

Die Erklärung hierfür ist leicht zu geben. Die Rötung der Lackmusmolke wird bekanntlich durch Säurebildung der Bakterien, d. h. durch Spaltung des Milchzuckers hervorgerufen, während die Blaufärbung auf eine Alkalibildung der Bakterien zurückzuführen ist.

Färbt ein Stamm also die Lackmusmolke bereits nach 24 Stunden blau oder überhaupt blau, ohne erst zu röten, so muß er sich bereits sehr stark vermehrt und reichlich Alkali gebildet haben. Eine Zersetzung des Milchzuckers hat dann wohl gar nicht stattgefunden oder ist so langsam erfolgt, daß die Alkalibildung überwog.

Die durch den Aufenthalt im Wasser aber gewissermaßen ausgehungerten Stämme sind, in die Nährflüssigkeit gebracht, nicht sogleich imstande, sich rapide zu vermehren, sie verbrauchen hierfür vielmehr zunächst sehr viel mehr Nährsalzsubstanz, d. h. sie zersetzen auch den Milchzucker, und erst dann, wenn die Vermehrung stark vor sich geht, überwiegt die Alkalibildung, was dann darin sichtbar wird, daß die ursprüngliche rote Farbe sich in Blau verwandelt.

Auf die einzelnen Stämme gesondert einzugehen, dürfte kaum nötig sein, da, wie schon erwähnt, die Änderungen bei den einzelnen Stämmen vollkommen unregelmäßig waren. Hervorheben möchte ich nur noch, daß typische und atypische Kolis

geprüft wurden, und daß im Laufe der Untersuchungen sowohl die typischen atypisch wurden, als auch es mitunter vorkam, daß ein erst atypischer mehr typisch wurde, was allerdings nach den oben angegebenen Erklärungen eigentlich selbstverständlich ist.

Ferner wurden noch zehn Typhusstämme in etwa der gleichen Weise untersucht. Diese zeigten keinerlei Veränderung. Dieses Resultat war auch zu erwarten, da bei den Koli-Stämmen schon die Beobachtung gemacht war, daß negative Resultate fast nie in positive umschlagen, daß aber andererseits das Verhalten in Lackmusmolke, der einzige Nährboden, in dem die verschiedenen Typhus-Stämme Änderungen, teils Rötung teils Bläuung, hervorbrachten, bei allen Stämmen am konstantesten war.

Ergebnisse des II. Teiles.

Es geht also aus diesen Versuchen mit Bestimmtheit hervor, daß Bakterienstämme, die in sterilem Wasser aufbewahrt werden, auf den gebräuchlichen Nährböden sich zu verschiedenen Zeiten verschieden verhalten. Dieser Wechsel hängt ab einerseits von den Bakterien, andererseits von den Nährböden. Abhängig von den Bakterien ist der Ausschlag in der Lackmusmolke, vom Nährboden die Reaktion in Traubenzuckeragar, Neutralrot und Milch.

Es folgt also daraus einmal, daß, wenn man einen aus Wasser gezüchteten Koli-Stamm untersucht, die gefundenen Eigenschaften nicht durchweg mit denen übereinzustimmen brauchen, die der Stamm ursprünglich besessen hat. Andererseits sind unsere heutigen Untersuchungsmethoden aber keineswegs imstande, einen fraglichen Stamm wirklich einwandfrei zu charakterisieren, da der Ausschlag mancher Reaktionen teilweise von außer der Bakterienkultur gelegenen Umständen abhängt, die zu bestimmen oder zu erkennen wir heute nicht imstande sind.

Zusammenfassung der Ergebnisse des I. und II. Teiles.

Eine Einteilung der gesamten Typhus-Koli-Gruppe ist nur in kleinere Untergruppen nicht aber in bestimmte Arten möglich.

Es kommen von den beiden Extremen vom Typhus bis zum Coli commune alle Übergänge vor.

Die Eigenschaften der Vertreter der Typhus-Koli-Gruppe sind nicht konstant, sondern können sich ändern.

In diesen Veränderungen, die bei unseren Untersuchungen sichtbar werden, ist einerseits die Zusammensetzung des Nährbodens, andererseits aber auch das Verhalten der Bakterien schuld.

Es folgt:

Tabelle I.

Zusammenstellung der Resultate von 75 Koli- und Koliähnlichen Stämmen, die aus pathologischen Fällen gezüchtet wurden und von 22 Typhusfällen (S. 180—191).

Tabelle II.

Zusammenstellung der Resultate von 45 Kolistämmen, welche in sterilem Leitungswasser gehalten und nach 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 u. 15 Wochen herangezüchtet und wieder untersucht worden (S. 192—205).

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
1	Schmorauz 9	Appendicitiseiter	rot	rot	+	+	+	+	+
2	Anna III 37	Stuhl	rot	rot	+	+	+	+	+
3	Karl III 40	Stuhl	rot	rot	+	+	+	Spur +	—
4	Dichlmann I 41	Scheiden- sekret	rot	rot	+	schwach + n. 14 Tag.	+	— nach 14 Tag. +	—
5	Fischer I 7	Stuhl	blau	weiß mit schwach rötl. Schein	+	+	+	+	schwach +
6	Elisabeth IV 59	Stuhl	rötlich	rot	+	+	+	+	schwach +
7	Katharina II 20	Stuhl	in der Mitte blau, Rand rot, nach 8 Tagen voll- komm. blau	rot	schwach +	+	+	+	schwach +
8	Euler IV 63	Stuhl	rötlich	rot	+	schwach + n. 8 Tagen stark +	+	+	—
9	Stoll	Stuhl	rot	rot	+	+	+	+	+
10	Günther	Sammlung	rot	rot	+	+	+	+	+
11	Bugh 11	Stuhl	Platte vio- lett, Kultur violett, nach 8 Tagen bläulicher Schimmer	rot	+	+	+	+	+
13	Soetbeer anaerob 13	Stuhl	Mitte rot, Rand blau, n. 10 Tag. vollk. blau	rot	+	+	+	+	—
14	Anna I 14	Stuhl	rot	rot	+	+	+	n. 24 Stdn. schwach + n. 8 Tagen stark +	+
15	Elisabeth I 17	Stuhl	rot	rot	+	+	+	schwach +	+
16	Karl I 18	Stuhl	rot	rot	+	+	+	+	—
17	Darm- pathogen	Sam- lung	blau- violett, nach 8 Tag. dunkelblau	rot	schwach +	+	+	+	+
18	Fischer II 22	Stuhl	violett, n. 3 Tag. blau	rot	schwach +	+	+	+	—

Gram-färbbarkeit	Gelatineverflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immuneserum 1:100	Agglutinat. mit Paratyphus-B-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Paratyph.-A-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Gärner-Immuneserum 1:100
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	zieml. üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	Spur + n. 14 Tagen	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	Spur + n. 14 Tagen	-	-	-	-	-
-	-	zieml. üppig	+	schwach + n. 14 Tagen	-	schwach	-	-	-
-	-	üppig	+	stark +	-	+	-	-	-
-	-	üppig	+	-	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	n. 14 Tagen	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	n. 14 Tagen	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	n. 3 Tagen	-	-	-	+
-	stark +	üppig durchsichtig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	ziemlich zart	+	+	-	1:800	-	-	+
-	-	üppig	+	+	-	schwach	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	schwach	-	-	-
-	-	zart	schwach +	Spur + n. 14 Tagen	-	stark +	-	-	-
-	-	üppig	+	-	schwach + n. 3 Tagen	stark +	-	+	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-

Nach ca. 20 maligem Umimpfen zeigt der Stamm mit Typhus-Immuneserum u. Paratyphus-B-Immuneserum 1:100 deutliche Agglutination

Nach 5 Monaten ist die Agglutination mit Typhus-Immuneserum negativ.

Nach 5 Monaten ist die Agglutination mit Typhus-Immuneserum negativ.

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
19	Schamp 25	Samm- lung	Platte bläulich, Kultur violett	rot	—	schwach +	schwach +	+	?
20	Ochs 33	Tampon Frauen- klinik	rötlich- violett, n. 8 Tag. bläu- lich-violett	rot	+	+	+	schwach +	schwach +
21	Schmidt I 57	Scheiden- sekret	rot	rot	+	+	+	— n. 8 Tagen +	+
22	Wolff II 78	Stuhl	rot	rot	+	+	+	+	—
23	Wolff III 79	Stuhl	rot	rot	+	— n.8 Tagen +	+	— n. 8 Tagen Spur +	—
24	Giebel Urin 55	Urin	blau- violett	rot	+	Spur +	+	+	+
25	Euter III 62	Stuhl	rötlich	rot	+	schwach + n.8 Tagen	+	+ n. 8 Tagen gelöst	—
26	J I 73	Stuhl	rot	rot	+	+	+	+ n. 8 Tagen gelöst	schwach +
27	J II 81	Stuhl	rot	rot	+	— n.8 Tagen +	+	+ n. 8 Tagen bis auf Spuren, n. 14 Tag. voll- ständ. gel.	—
28	J III 82	Stuhl	rot	rot	+	Spur + n.8 Tagen +	+	Spur + n. 8 Tagen gelöst	+
29	Brendel 100	Scheiden- sekret	rot	rot	+	schwach +	+	+ n. 14 Tagen gelöst	schwach +
30	Binz 80	Blut	blau	weiß	+	+	+ n. 8 Tagen blau	— n. 8 Tagen Spur +	—
31	Schmidt III 86	Stuhl	blau	schwach rot	+	+	schwach blau, n. 5 Tagen stark blau	— n. 5 Tagen +	+
32	Soetbeer 1	Stuhl	rot	rot	+	schwach +	+	—	+
33	Bohnen- suppe rot 3	Bohnen- suppe	rot	rot	+	schwach +	+	—	+
34	Schuckhardt 6	Scheiden- sekret	blau	rot	—	—	+	—	—

Gram-färbbarkeit	Gelatine-verflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immunserum 1:100	Agglutinat. mit Paratyphus-B-Immunser. 1:100	Agglutination mit Paratyph.-A-Immunser. 1:100	Agglutination mit Gärtner-Immunserum 1:100	
?	?	?	?	?	schwach +	?	?	?	?	
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	Spur + n. 14 Tagen +	-	-	-	-	+	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen stark +	n. 3 Tagen schwach +	-	-	-	+	
-	-	üppig	schwach +	Spur + n. 14 Tagen stark +	-	+	+	+	+	Spontanagglutination!
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen +	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen +	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen stark +	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	-	schwach + n. 14 Tagen stark +	+	-	-	-	-	
-	-	üppig	schwach + n. 14 Tag. stark +	schwach + n. 14 Tagen stark +	-	-	-	-	-	
-	-	ziemlich üppig	+	- n. 14 Tagen +	-	-	-	-	-	
-	+	zart	+	schwach + n. 14 Tagen stark +	-	-	-	-	-	
-	+	üppig	+	schwach + n. 14 Tagen stark +	-	-	-	-	-	
-	-	üppig, ziemlich durchsicht. irisierend	+	schwach + n. 14 Tagen +	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	?	?	?	-	-	?	?	
-	-	ziemlich üppig	-	-	-	-	-	-	-	

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutra- rot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
35	Dyroff 8	Scheiden- sekret	rot	rot	+	+	+	-	+
36	Giebel I 15	Stuhl	Platte vio- lett, Kultur violett	rot	schwach +	+	+	-	+
37	Katharina I 16	Stuhl	rot	rot	+	+	+	-	-
38	Schamp- thaus 61	Stuhl- kraus- Passage	rot	rot	+	schwach +	+	-	-
39	Schliep- hacke I 65	Stuhl	rot	rot	+	schwach + n. 8 Tagen	+	-	+
40	Schliep- hacke II 66	Stuhl	rot	rot	+	schwach + n. 8 Tagen	+	-	+
41	Hoffmann 69	Urin	rot	rot	+	+	+	-	-
42	Weber 70	Urin	schwach rot	rot	+	+	+	-	-
43	Wolf I 77	Stuhl	blau	rot	+	+	+	-	-
44	Enteritis König 99	Samml- lung	blau	rötlich	+	+	+	-	+
45	Karl II 19	Stuhl	blau	rot	+	+	- n. 8 Tagen stark blau	-	-
46	Fischer III 23	Stuhl	blau	rötl. schim- mernd, n. 8 Tagen Mitte hell, Rand rot	+	schwach +	- n. 14 Tagen +	-	-
47	Hooß I 28	Stuhl	blau	rot	+	-	schwach +, n. 8 Tagen stark blau, dann viol.	-	-
48	Hooß II 29	Stuhl	blau	rot	+	- n. 14 Tag. schwach +	+ n. 8 Tagen stark blau, dann viol.	-	-
49	Euler I 20	Stuhl	blau	rot	+	+	+	-	+

Gram-färbbarkeit	Gelatineverflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immuneserum 1:100	Agglutinat. mit Paratyphus-B-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Paratyph.-A-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Gärtner-Immuneserum 1:100	
-	-	üppig	+	schwach + n. 14 Tagen	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen	+	1:100	-	-	-	Nach ca. 15-20maligem Umimpfen zeigt der Stamm sehr starke Agglutination mit Typhus-Immuneserum 1:100 und Paratyphus-B-Immuneserum 1:100. Nach 5 Monaten ist die Agglutination negativ.
-	-	ziemlich zart	+	schwach + n. 14 Tagen	-	1:100	-	-	-	
-	-	üppig	+	+	schwach + n.3 Tagen	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen	-	-	-	-	-	
-	-	erst zart, fest im Agar, später üppiger	+	Spur + n. 14 Tagen	-	-	-	-	+	
-	-	ziemlich üppig	+	- n. 14 Tagen	-	schwach +	-	schwach +	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen	-	-	-	-	+	
-	-	ziemlich zart und durchsichtig	Spur + n. 14 Tag.	- n. 14 Tagen	-	-	+	-	+	
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-	
-	-	üppig	+	- n. 14 Tagen	-	-	-	?	?	
-	-	sehr üppig	+	+	-	-	-	-	-	
-	-	ziemlich zart	+	- n. 14 Tagen	-	+	stark +	-	-	

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
50	Euler II 27	Stuhl	rot	rot	+	+	+	-	+
51	Hooß III 30	Stuhl	rot	rot	+	n. 14 Tag. +	+	-	schwach +
52	Nicolai I 31	Galle	rot	rot	+	n. 8 Tagen +	+	-	+
53	Nicolai II 32	Galle	blau, nach 8 Tagen blau- violett	rot	-	n. 14 Tag. Spur +	blau	-	-
54	Anna II 36	Stuhl	blau	weiß	+	+	n. 14 Tagen +	-	-
55	Katha- rina III 38	Stuhl	blau	weiß	+	+	n. 14 Tagen blau	-	-
56	Katharina IV 39	Stuhl	rot- violett	rot	+	+	+	-	-
57	Dichlmann II 42	Uterus- sekret	rot	rot	+	schwach + n. 14 Tag. +	+	-	+
58	Dichl- mann III 43	Uterus- sekret	rot	rot	+	+	+	-	-
59	Lindenstruth 51	Stuhl	blau	weiß	+	+	stark blau	-	+
60	Pfeifer 52	Stuhl	blau	weiß	+	+	n. 3 Tagen stark blau	Spur + n. 3 Tagen fast voll- kommen +, n. 14 Tagen vollk. +	+
61	Anna IV 58	Stuhl	blau	durch- scheinend rötlich, später rot	+	+	n. 8 Tagen stark blau	-	schwach +
62	Beyer 75	Urin	blau	weiß	+	Spur + n. 8 Tagen +	n. 8 Tagen blau	-	+
63	Enteritis Gärtner 96	Samm- lung	blau	weiß	+	schwach +	n. 5 Tagen blau	-	+
64	Enteritis Keinsche 98	Samm- lung	blau	rötlich, n. 8 Tagen farblos	+	+	n. 5 Tagen blau	-	+
65	Bohnen- suppe weiß 4	Bohnen- suppe	blau	weiß	-	ganz schwach +	stark blau	-	+

Gram-färbbarkeit	Gelatine-verflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immuneserum 1:100	Agglutinat. mit Paratyphus-B-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Paratyph.-A-Immuneser. 1:100	Agglutination mit Gärtner-Immuneserum 1:100
-	-	ziemlich üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	ziemlich üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	ziemlich üppig	n. 14 Tag. +	-	-	-	-	-	-
-	-	ziemlich üppig	n. 14 Tag. +	-	-	-	-	-	-
-	-	ziemlich üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	+	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	schwach + n. 14 Tagen +	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	-	-	-	-	-
-	-	zart	+	n. 14 Tagen schwach +	-	-	+	-	+
-	-	zart	+	n. 14 Tagen +	-	-	+	-	+
-	-	ziemlich üppig	+	n. 14 Tagen +	-	schwach +	-	-	-
-	-	zart	+	n. 14 Tagen +	-	-	+	-	+
-	-	üppig	+	Spur + n. 14 Tagen +	-	schwach +	-	-	+
-	-	ziemlich üppig	+	Spur +	-	-	+	-	+
-	-	ziemlich zart	schwach + n. 14 Tag. +	+	-	-	-	-	-

13*

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
66	Stiele 5	Scheiden- sekret	blau	rot	—	—	+	—	—
67	Klein 2	Scheiden- sekret	blau	rot	—	ganz schwach +	blau	—	schwach +
68	Rosenstein I 34	Galle	blau	rot	—	—	— n. 8 Tagen +	—	—
69	Rosen- stein II 35	Galle	blau	rot	—	—	— n. 8 Tagen +	—	—
70	Schäfer 53	Scheiden- sekret	blau	rötlich, n. 5 Tagen rot	—	—	— n. 3 Tagen stark blau	—	+
71	Giebel II 54	Stuhl	blau	rot	+	+	blau	—	+
72	Kissel	Galle	blau	schwach rötlich, n. 5 Tagen rot	—	—	— n. 3 Tagen blau	—	—
73	Beermann 60	Scheiden- sekret	blau	rötlich	—	—	schwach + n. 8 Tagen blau	—	—
74	Schmidt II 85	Stuhl	blau	weiß, n. 8 Tag. dicker roter Rand	—	—	+ n. 8 Tagen —	—	schwach +
75	Naschinetz 24	Samml- ung	blau, nach 8 Tagen Platte blau-violett, Kultur schmutzig- orangeleder- braun	rot	—	—	+ n. 8 Tagen schwach blau	— n. 14 Tagen +	+
76	Typhus Milz 44	Samml- ung	blau	durch- sichtig rötl.	—	—	—	—	+
77	Typhus 166 45	Samml- ung	blau	rot	—	—	—	Spur +	+
78	Typhus 13 46	Samml- ung	blau	weiß	—	—	—	—	+
79	Typhus U. A. 1 47	Samml- ung	blau	weiß	—	—	schwach +	—	+
80	Typhus U. A. 2 48	Samml- ung	blau	rötlich, n. 5 Tagen rot	—	—	schwach + n. 14 Tagen +	Spur +	+
81	Typhus U. A. 3 49	Samml- ung	blau	weiß	—	—	—	Spur +	+

Gram-färbbarkeit	Gelatineverflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immunserum 1:100	Agglutinat. mit Pharatyphus-B-Immunser. 1:100	Agglutination mit Paratyph.-A-Immunser. 1:100	Agglutination mit Gärtners-Immunserum 1:100
-	+	zart	-	-	Spur + n. 8 Tagen stark ++	-	-	-	-
-	-	zart	schwach + n. 14 Tag.	+	-	-	-	-	-
-	-	schleimig friedländerähnlich	+	-	n. 3 Tagen Spur ;	schwach +	-	-	-
-	-	schleimig friedländerähnlich	+	-	n. 3 Tagen schwach +	-	-	+	-
-	+	üppig braun	n. 14 Tag. schwach +	n. 14 Tagen Spur ;	-	-	-	-	-
-	-	üppig	+	+	+	-	-	-	-
-	-	zart. fest im Agar	-	n. 14 Tagen Spur +	-	-	-	-	-
-	n. 10 Tagen +	üppig gelb	+	n. 14 Tagen schwach + n. 14 Tagen stark +	-	schwach +	-	-	-
-	-	ziemlich üppig	+	n. 14 Tagen +	-	-	-	-	+
-	+	üppig gelblich	n. 14 Tag. +	-	n. 3 Tagen +	-	-	-	-
-	-	zart	+	n. 14 Tagen +	-	+	-	-	+
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	-
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	+
-	-	ziemlich zart	n. 14 Tag. +	n. 14 Tagen +	-	+	schwach +	-	schwach +
-	-	ziemlich üppig	+	-	-	+	-	-	-
-	-	ziemlich zart	+	n. 14 Tagen schwach +	-	+	-	-	-

Nr.	Name	Herkommen	Drygalski	Endo	Trauben- zuckeragar	Neutralrot- agar	Lackmus- molke	Milch- koagulation	Beweglichkeit
82	Typhus U. A. 4 50	Samm- lung	blau	weiß	—	—	—	—	+
83	Typhus Schmidt 67	Samm- lung	blau	weiß	—	—	n. 14 Tagen schwach +	—	+
84	Typhus 191 71	U. A.	blau	weiß	—	—	—	—	+
85	Böttcher Typhus 74	Stuhl U. A.	blau	weiß	—	—	n. 8 Tagen blau	—	—
86	Typhus 197 76	U. A.	blau	weiß	—	—	+	—	+
87	Diehl 83	Stuhl	blau	weiß	—	—	geringe Spur + n. 8 Tagen schwach +	—	+
88	Schliep- hacke 3 84	Stuhl	blau	weiß	—	—	n. 8 Tagen schwach blau	—	+
89	Typhus 217 87	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen +	—	+
90	Typhus 221 88	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen +	—	+
91	Typhus 187 89	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen blau	—	+
92	Typhus 205 90	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen +	—	+
93	Typhus 88 91	U. A.	blau	weiß	—	—	+	—	+
94	Typhus 185 92	U. A.	blau	weiß	—	—	n. 8 Tagen blau	—	+
95	Typhus 201 93	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen +	—	+
96	Typhus 209 94	U. A.	blau	weiß	—	—	Spur + n. 8 Tagen +	—	+
97	Typhus 173 95	U. A.	blau	weiß	—	—	schwach + n. 8 Tagen +	—	+
							n. 5 Tagen Spur +		+

Gram-färbbarkeit	Gelatine-verflüssigung	Wachstum auf Schrägagar	Schwefelwasserstoffbildung nach 3 Tagen	Indolbildung nach 3 Tagen	Hämolyse	Agglutination mit Typhus-Immunserum 1:100	Agglutinat. mit Paratyphus-B-Immunser. 1:100	Agglutination mit Paratyph-A-Immunser. 1:100	Agglutination mit Gärtner-Immunserum 1:100	
-	-	zart	+	-	-	+	-	-	-	
-	-	ziemlich zart	-	n. 14 Tagen schwach +	-	+	-	-	schwach +	
-	-	zart	+	n. 14 Tag. schwach +	-	+	-	-	-	Agglutination mit Typhus-Immunserum ist mitunter negativ.
-	-	zart	+	-	-	+	-	-	schwach +	Agglutination mit Aqua dest. positiv, mit physiologischer NaCl-Lösung negativ.
-	-	zart	+	-	-	+	-	-	Spur +	
-	-	zart	+	-	-	+	-	-	+	
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	-	Agglutination mit Typhus-Immunserum ist mitunter negativ.
-	-	zart	+	-	-	+	-	-	-	
-	-	zart	schwach +	-	-	+	-	-	-	
-	-	zart	n. 14 Tag. stark +	-	-	+	-	-	-	
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	-	
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	+	
-	-	ziemlich üppig	+	-	-	+	-	-	+	
-	-	ziemlich zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	-	
-	-	zart	+	n. 14 Tagen Spur +	-	+	-	-	+	
-	-	zart	+	n. 8 Tagen Spur +	-	+	-	-	+	
-	-	zart	+	n. 14 Tagen schwach +	-	+	-	-	-	

Nr.	Name	ursprünglich				nach 1 Woche				nach 2 Wochen			
		Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
1	Karl II 19	+	+	— n.8 Tag. blau	—	+	+	— n.8 Tag. blau	—	schwach +	schwach + n.8 Tag. +	+ n.8 Tag. blau	—
2	Darm path. 21	+	+	+	+	+	— n.8 Tag. +	+	+	+	— n.8 Tag. +	+	— n.8 Tag. +
3	Hooß I 28	+	—	schwach + n.8 Tag stark blau später violett	—	+	— n.8 Tag. schwach +	schwach + n.8 Tag. blau	—	+	— n.8 Tag. schwach + nach 14 Tagen +	Spur + n.8 Tag. blau	—
4	Hooß II 29	+	— nach 14 Tagen schwach +	+ n.8 Tag. stark blau dann violett	—	+	schwach + n.8 Tag. stark +	— n.8 Tag. blau	—	+	— n.8 Tag. +	mäßig stark + n.8 Tag. blau	—
5	Nicolai I 31	Spur +	— nach 14 Tagen schwach +	+	—	Spur +	— n.8 Tag. stark +	schwach + n.8 Tag. stark +	—	mäßig stark +	— n.8 Tag. Spur +	schwach + n.8 Tag. +	—
6	Nicolai II 32	—	— nach 14 Tagen Spur +	blau	—	—	— n.8 Tag. blau	schwach blau	—	—	—	— n.8 Tag. schwach + nach 14 Tagen schwach blau	—
7	Rosenstein I 34	—	—	— n.8 Tag. +	—	—	— n.8 Tag. +	— n.8 Tag. +	—	—	—	— n.8 Tag. +	—
8	Rosenstein II 35	—	—	— n.8 Tag. +	—	—	— n.8 Tag. +	— n.8 Tag. +	—	—	—	schwach + n.8 Tag. +	—
9	Anna II 36	+	+	nach 14 Tagen +	—	+	+	— n.8 Tag. blau	—	schwach +	— n.8 Tag. +	— n.8 Tag. blau	—
10	Katharina III 38	+	+	+ nach 14 Tagen blau	—	+	+	+ n.8 Tag. blau	—	+	+	Spur + n.8 Tag. blau	—
11	Lindenstruth 51	+	+	blau	—	+	schwach + n.8 Tag. +	+ n.8 Tag. blau	—	+	schwach + n.8 Tag. +	+ n.8 Tag. blau	—

nach 3 Wochen				nach 4 Wochen				nach 5 Wochen			
Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	schwach + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-	+	Spur + n. 8 Tagen schwach +	-	-	+	Spur + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-
+	+	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	nach 14 Tagen +	+	- n. 8 Tagen schwach +	+	- n. 8 Tagen +
+	Spur + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-	+	+	+ n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen blau	-
+	+	schwach + n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen blau	-
+	Spur + n. 8 Tagen +	- n. 8 Tagen +	-	schwach +	- n. 8 Tagen +	+	-	-	-	+	-
-	-	nach 14 Tagen schwach blau	n. 8 Tagen schwach + nach 14 Tagen +	-	-	n. 8 Tagen schwach blau nach 14 Tagen +	-	-	-	nach 14 Tagen +	-
-	-	n. 8 Tagen +	-	-	-	n. 8 T8gen +	-	-	-	n. 8 Tagen +	-
-	-	n. 8 Tagen +	-	-	-	schwach + n. 8 Tagen +	-	-	-	n. 8 Tagen +	-
-	schwach + n. 8 Tagen +	schwach + n. 8 Tagen blau	-	+	+	+ n. 8 Tagen blau	-	-	+	+ n. 8 Tagen blau	-
schwach +	n. 8 Tagen +	schwach + n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen Spur +	+ n. 8 Tagen blau	-	+	+	+ n. 8 Tagen blau	-
schwach +	+	+ n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-	-	- n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-

Nr.	Name	ursprünglich				nach 1 Woche				nach 2 Wochen			
		Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
12	Pfeifer 52	+	+	— n. 3Tag blau	schwach nach 14 Tag.	+	+	— n. 8Tag. blau	n. 8Tag. Spur nach 14 Tag.	Spur +	schwach + n. 8Tag.	schwach + n. 8Tag. blau	— nach 14 Tag.
13	Giebel II Stuhl 54	+	+	blau	—	+	+	— n. 8Tag. blau	—	+	schwach + n. 8Tag.	mäßig stark n. 8Tag. blau	—
14	Giebel II Urin 55	+	Spur +	+	schwach nach 14 Tag.	+	+	— n. 8Tag. +	— +	+	— n. 8Tag. +	+	schwach + n. 8Tag. +
15	Kissel 56	—	—	— n. 3Tag. blau	—	—	— n. 8Tag. blau	—	—	—	—	— nach 14 Tagen blau	—
16	Bohnen- suppe weiß 4	—	ganz schwach +	blau	—	—	blau	—	—	—	—	Spur n. 8Tag. blau	—
17	Soetbeer 1	+	schwach +	+	—	+	schwach +	+	—	+	— n. 8Tag. stark +	+	—
18	Schuckhardt 6	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	Geringe Spur n. 8Tag. +	— nach 14 Tag.
19	Fischer I 7	+	+	+	+	+	— n. 8Tag. schwach nach 14 Tag.	+	— n. 8Tag. +	+	Spur + n. 8Tag. +	schwach + nach 14 Tagen blau	— nach 14 Tag.
20	Dyroff 8	+	+	+	—	+	+	+	—	+	Spur + n. 8Tag. +	+	—
21	Schmorauz 9	+	+	+	+	+	+	+	—	+	Spur + n. 8Tag. +	+	—
22	Bergh 11	+	+	+	+	+	+	+	—	+	Spur + n. 8Tag. +	+	—
23	Svetbeer anaerob 13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	schwach + n. 8Tag. +	+	—
24	Anna I 14	+	+	+	schwach + n. 8Tag. +	+	Spur + n. 8Tag. +	+	—	+	— n. 8Tag. schwach + nach 14 Tag.	+	—
25	Giebel I Stuhl 15	+	+	+	—	+	+	+	+	+	— n. 8Tag. +	+	+
26	Katharina I 16	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—

nach 3 Wochen				nach 4 Wochen				nach 5 Wochen			
Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	+	+ n. 8 Tagen schwach blau	+	+	—	+ n. 8 Tagen blau	—	+	—	— n. 8 Tagen blau	+
+	Spur + n. 8 Tagen +	blau	—	+	— n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen schwach blau	—	+	Spur + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	—
+	schwach + n. 8 Tagen +	+	— n. 8 Tagen schwach + n. 14 Tag +	—	Spur n. 8 Tagen +	+	— n. 14 Tag +	+	—	+	— n. 14 Tag schwach +
+	—	schwach blau	—	—	—	— n. 8 Tagen blau	—	—	—	—	—
—	—	schwach + n. 8 Tagen blau	—	—	—	+ n. 8 Tagen —	—	—	—	— n. 8 Tagen blau	—
+	+	+	—	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	—	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	—
?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
+	schwach + n. 8 Tagen +	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+
+	+	+	— n. 8 Tagen +	schwach +	schwach +	+	—	+	+	+	+
+	+	+	—	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen —	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	—
+	+	+	+ n. 8 Tagen —	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	—	+	Spur + n. 8 Tagen —	+	—
+	— n. 8 Tagen schwach +	+	—	+	— n. 8 Tagen Spur +	+	—	+	+	+	+
schwach +	+	+	—	Spur +	Spur + n. 8 Tagen +	+	+	+	— n. 8 Tagen +	+	+
+	+	+	+	+	schwach +	+	—	+	+	+	+

Nr.	Name	ursprünglich				nach 1 Woche				nach 2 Wochen			
		Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
27	Elisabeth I 17a	+	+	+	schwach +	+	+	+	-	+	+	+	- nach 14 Tagen Spur +
28	Elisabeth I 17b	+	+	+	schwach +	+	+	+	-	+	+	+	- nach 14 Tagen Spur +
29	Karl I 18	+	+	+	+	+	+	+	+ n. 8Tag. -	+	- n. 8Tag. +	+	-
30	Katharina II 20	schwach +	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
31	Fischer II 22	schwach +	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
32	Fischer III 23	+	schwach +	- nach 14 Tag. +	-	+	+	- n. 8Tag. blau	-	+	+	blau	-
33	Naschinetz 24	-	-	+ n. 2Tag. blau	- nach 14 Tagen +	-	-	- n. 8Tag. blau	-	-	-	schwach + n. 8Tag. blau	-
34	Ochs 33	+	+	+	schwach +	+	+	+	+	+	schwach + n. 8Tag. +	+	-
35	Euler II 27	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
36	Hooß III 30	+	nach 14 Tagen +	+	-	+	+	+	+ n. 8Tag. -	+	+	+	-
37	Anna III 37	+	+	+	+	+	Spur + n. 8Tag. +	+	+ n. 8Tag. schwach +	+	Spur + n. 8Tag. +	+	-
38	Katharina IV 39	+	+	+	-	+	+	+	+ nach 14 Tagen schwach +	+	Spur - n. 8Tag. +	+	+ n. 8Tag. stark +
39	Karl III 40	+	+	+	Spur +	+	- n. 8Tag. +	+	-	+	- n. 8Tag. +	+	-
40	Dichlmann I 41	+	schwach + nach 14 Tag. +	+	-	+	+	+	+	schwach +	Spur - n. 8Tag. +	+	-
41	Dichlmann II 42	+	schwach + nach 14 Tag. +	+	-	+	+	+	schwach +	schwach +	+	+	-

nach 3 Wochen				nach 4 Wochen				nach 5 Wochen			
Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
Spur +	+	+ n.8 Tagen schwach blau n. 14 Tag.	+	schwach +	+	+ n.8 Tagen — n. 14 Tag. +	—	+	— n.8 Tagen schwach +	+	—
Spur +	+	+ n.8 Tagen schwach blau n. 14 Tag.	+	schwach +	+	+ n.8 Tagen — n. 14 Tag. +	—	+	+	+	+
+	+	+	—	+	Spur + n.8 Tagen schwach +	+	—	+	Spur + n.8 Tagen +	+	—
Spur +	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	+	+	—	Spur +	+	+	—	+	schwach +	+	—
+	+	schwach + n.8 Tagen blau	—	+	+	+ n.8 Tagen blau	—	+	Spur + n.8 Tagen +	+ n.8 Tagen blau	—
—	—	schwach + n.8 Tagen blau	—	—	—	+ n.8 Tagen blau	—	—	—	+ n.8 Tagen blau	—
+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—
+	—	+	+	+	schwach +	+	—	+	schwach +	+	+
+	+	+	+	Spur +	+	+	—	+	Spur + n.8 Tagen +	+	—
schwach +	+	+	+	Spur +	+	+	—	+	+	+	—
+	schwach + n.8 Tagen +	+	—	+	Spur + n.8 Tagen mäßig stark +	+	Spur + n.8 Tagen —	+	+	+	+
+	schwach + n.8 Tagen +	+	—	+	—	+	—	+	schwach + n.8 Tagen +	+	—
schwach +	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—
+	+	+	+	+	schwach + n.8 Tagen +	+	—	+	— n.8 Tagen +	+	—

Nr.	Name	ursprünglich				nach 1 Woche				nach 2 Wochen			
		Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
42	Dichlmann III 43	+	-	+	-	+	Spur + n. 8 Tag. +	+	-	+	- n. 8 Tag. +	+	- k. 8 Tag. schwach nach 14 Tagen +
43	Schmidt I 57	+	+	+	- n. 8 Tag. +	+	Spur +	+	-	+	Spur + n. 8 Tag. +	+	-
44	Euler III 62	+	schwach nach 8 Tag. +	+	+ n. 8 Tag. -	+	schwach + n. 8 Tag. +	+	-	+	schwach + n. 8 Tag. +	+	-
45	Euler IV 63	+	schwach + nach 14 Tag. +	+	+	+	schwach + n. 8 Tag. +	+	-	+	+	+	- n. 8 Tag. +

Nr.	Name	Nach 7 Wochen				Nach 9 Wochen			
		Gas- bildung	Neutral- rot	Lackmus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
1	Karl II 19	+	- n. 8 Tagen +	-	-	+	Spur + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-
2	Darm. path. 21	+	- n. 8 Tagen +	+	+	+	schwach + n. 8 Tagen +	- n. 8 Tagen +	- n. 8 Tagen +
3	Hooß I 28	+	-	+ n. 8 Tagen blau	-	+	- n. 8 Tagen Spur +	+ n. 8 Tagen blau	-
4	Hooß II 29	+	-	+ n. 8 Tagen blau	-	+	schwach + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	-

nach 3 Wochen				nach 4 Wochen				nach 5 Wochen			
Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	- n.8 Tagen +	+	-	+		+	schwach - n.8 Tagen +	+	schwach +	+	+
Spur +	- n.8 Tagen +	+	-	+	- n.8 Tagen schwach +	+	- n.14 Tag. +	+	-	+	- n.14 Tag. schwach +
+		+	-	+	- n.8 Tagen schwach +	+	-	+	+	+	+
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	+	Spur +	+	-	+	+	+	+

Nach 11 Wochen				Nach 13 Wochen				Nach 15 Wochen			
Gas- bil- dung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	- n.8 Tagen +	+ n.8Tag. blau	-	+		+ n.8 Tagen blau	-	+	+	+ n.8 Tagen - n.14 Tag. schwach blau	-
+	- n.8 Tagen +	+	- n.8Tag. +	+	Spur +	+	+	+	+	schwach + n.8Tag. +	- n.8Tag. +
+	+ n.8 Tagen schwach +	+ n.8Tag. blau	-	+	-	+ n.8 Tagen blau	-	+	- n.8Tag. schwach +	+ n.8 Tagen - n.14 Tag. schwach blau	-
+	-	+ n.8Tag. blau	-	+	-	+ n.8 Tagen blau	-	+	Spur + n.8Tag. stark +	+ n.8 Tagen - n.14 Tag. blau	-

Nr.	Name	Nach 7 Wochen				Nach 9 Wochen			
		Gas- bildung	Neutral- rot	Lackmus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
5	Nicolai I 31	+	—	+	—	+	—	schwach + n. 8 Tagen	—
6	Nicolai II 32	—	—	— n. 8 Tagen +	—	—	—	+ n. 8 Tagen blau	—
7	Rosenstein I 34	—	—	— n. 8 Tagen +	—	—	—	— n. 8 Tagen +	—
8	Rosenstein II 35	—	—	— n. 8 Tagen +	—	—	—	Spur + n. 8 Tagen +	—
9	Anna II 36	+	Spur + n. 8 Tagen +	— n. 8 Tagen blau	—	+	+	Spur + n. 8 Tagen blau	—
10	Katharina III 38	+	— n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen bläulich, n. 14 Tagen blau	—	+	— n. 8 Tagen Spur +	+ n. 14 Tag. schwach blau	—
11	Lindenstruth 51	+	— n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen blau	—	+	— n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen blau	—
12	Pfeifer 52	+	— n. 8 Tagen schwach +	+ n. 8 Tagen blau	+	+	+	+ n. 8 Tagen blau	+
13	Giebel II Stuhl 54	+	Spur + n. 8 Tagen +	+ n. 8 Tagen blau	—	+	— n. 8 Tagen +	schwach + n. 8 Tagen blau	—
14	Giebel Urin 55	+	—	+	+	+	—	+	+
15	Kissel 56	+	—	— n. 8 Tagen blau	—	—	—	Spur + n. 8 Tagen —	—
16	Bohnensuppe weiß	—	—	+ n. 8 Tagen blau	—	—	—	+ n. 8 Tagen blau	—
17	Soetbeer 1	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Schuckhardt 6	nicht weiter untersucht							

Nach 11 Wochen				Nach 13 Wochen				Nach 15 Wochen			
Gas- bil- dung	Neu- tral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	-	+	-	+	-	+	-	+	Spur + n.8Tag. +	+	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	n.8Tag. blau	-	-	-	n.8 Tagen blau	-	-	-	n.8 Tagen blau	-
-	-	n.8Tag. +	-	-	-	n.8 Tagen +	-	-	-	n.8 Tagen +	-
-	-	n.8Tag. +	-	-	-	n.8 Tagen +	-	-	-	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	n.8Tag. blau	-	+	-	schwach +	-	+	+	n.8 Tagen blau	-
+	n.8 Tagen +	n.8Tag. blau	-	+	n.8Tag. Spur +	n.8 Tagen schwach +	-	+	n.8Tag. schwach +	n.8 Tagen schwach +	-
+	Spur + n.8 Tagen +	n.8Tag. blau	-	+	Spur +	n.8 Tagen blau	-	+	+	n.14 Tag. blau	-
+	n.8 Tagen +	n.8Tag. blau	nach 14 Tagen +	+	n.8Tag. schwach +	n.8 Tagen blau	schwach +	+	+	+	n.8Tag. schwach +
+	schwach +	n.8Tag. blau	-	+	+	n.8 Tagen blau	-	+	+	n.8 Tagen +	nach 14 Tag. +
+	n.14 Tag. schwach +	+	+	+	nach 14 Tagen Spur +	+	nach 14 Tag. +	+	+	+	Spur + n.8Tag. +
-	-	nach 14 Tagen blau	-	-	-	-	-	-	-	n.8 Tagen schwach +	-
-	-	n.8Tag. blau	-	-	-	n.8 Tagen blau	-	-	-	n.14 Tag. blau	-
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-

Nr.	Name	Nach 7 Wochen				Nach 9 Wochen			
		Gas- bildung	Neutral- rot	Lackmus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
19	Fischer I 7	nicht weiter untersucht							
20	Dyroff 8	+	— n. 8 Tagen schwach +	+	—	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	+
21	Schmorauz 9	+	— n. 8 Tagen schwach +	+	schwach +	+	+	+	+
22	Bergh 11	+	+	+	+	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	+
23	Soetbeer anaerob 16	+	— n. 8 Tagen +	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	—
24	Anna I 14	+	— +	+	—	+	+	+	+
25	Giebel I Stuhl 15	+	— n. 8 Tagen Spur +	+	— n. 8 Tag. +	+	+	+	+
26	Katharina I 16	+	+	+	—	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen —
27	Elisabeth I 17 a	+	— n. 8 Tagen +	+	— n. 8 Tagen blau	+	+	+	—
28	Elisabeth I 17 b	+	— n. 8 Tagen +	+	—	Spur +	+	+	+
29	Karl I 18	+	—	+	+	+	+	+	+
30	Katharina II 20	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	schwach + nach 14 Tag. —	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	+
31	Fischer II 22	+	schwach +	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	+
32	Fischer III 23	+	+	schwach + n. 8 Tagen blau	—	+	Spur + n. 8 Tagen +	—	—

Nach 11 Wochen				Nach 13 Wochen				Nach 15 Wochen			
Gas- bil- dung	Neu- tral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bil- dung	Neu- tralrot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	+	- n.8Tag. Spur +	+	-	+	+	+	-
+	+	+	Spur + n.8Tag. -	+	+	+	Spur + nach 14 Tag. -	+	+	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	+	Spur + nach 14 Tagen -	+	+	+	-	+	+	+	-
+	- n.8 Tagen +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	+	+	+	Spur + n.8Tag. -	+	+	+	schwach + nach 14 Tagen Spur +
+	Spur + n.8 Tagen +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	+	Spur + n.8Tag. schwach +	+	-	+	+	+	-
+	schwach + n.8 Tagen +	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
+	schwach + n.8 Tagen +	+	schwach + nach 14 Tag. -	+	+	+	+	+	+	+	Spur + n.8Tag. -
+	Spur + n.8 Tagen +	+	- n.8Tag. +	+	schwach + n.8Tag. +	+	-	+	+	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
+	Spur + n.8 Tagen +	Spur + n.8Tag. blau	-	+	+	+	n.8 Tagen blau	+	+	+	n.8 Tagen schwach blau. n. 14 Tag. blau

14*

Nr.	Name	Nach 7 Wochen				Nach 9 Wochen			
		Gas- bildung	Neutral- rot	Lackmus- molke	Milch- koagu- lation	Gas- bildung	Neutral- rot	Lack- mus- molke	Milch- koagu- lation
33	Naschinetz 24	—	—	+ n. 8 Tagen blau	—	—	schwach + n. 8 Tagen blau	—	
34	Ochs 33	+	+	+	+	— n. 8 Tagen +	+	—	
35	Euler II 27	—	—	+	—	+	— n. 8 Tagen schwach +	+	+
36	Hooß III 30	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	+	+	+	—	
37	Anna III 37	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	+	— n. 8 Tagen +	+	—	
38	Katharina IV 39	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	—	+	+	+	
39	Karl III 40	+	— n. 8 Tagen +	+	+	+	Spur + n. 8 Tagen +	+	+
40	Dichlmann I 41	+	— n. 8 Tagen +	+	+	+	+	+	+ n. 8 Tagen —
41	Dichlmann II 42	+	—	+	+	— n. 8 Tag. +	—	— n. 14 Tag. schwach +	—
42	Dichlmann III 43	+	— n. 8 Tagen +	+	+ n. 8 Tag. Spur +	+	schwach + n. 8 Tagen +	+	+
43	Schmidt I 57	+	— n. 8 Tagen schwach +	+	—	+	+	+	+
44	Euler III 62	+	— n. 8 Tagen schwach +	+	schwach +	+	— n. 8 Tagen +	+	+
45	Euler IV 63	+	— n. 8 Tagen +	+	schwach +	+	—	+	+

Nach 11 Wochen				Nach 13 Wochen				Nach 15 Wochen			
Gasbildung	Neutralrot	Lackmusmolke	Milchkoagulation	Gasbildung	Neutralrot	Lackmusmolke	Milchkoagulation	Gasbildung	Neutralrot	Lackmusmolke	Milchkoagulation
—	—	n. 8 Tag. blau	—	—	—	n. 8 Tagen blau	—	—	—	n. 8 Tagen blau	—
+	— n. 8 Tagen +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
+	— n. 14 Tag. schwach +	+	—	+	Spur +	+	—	+	+	+	—
+	Spur n. 8 Tagen +	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
+	Spur n. 8 Tagen +	+	+	+	schwach +	+	schwach +	+	+	+	—
+	— n. 8 Tagen +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	n. 8 Tag. +
+	Spur n. 8 Tagen +	+	+	+	+	+	schwach n. 8 Tag. —	+	+	+	—
+	schwach n. 8 Tagen +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Der Stamm ist abgestorben.											
+	Spur n. 8 Tagen +	+	—	+	schwach n. 8 Tag. +	+	Spur +	+	+	+	Spur n. 8 Tag. —
+	Spur n. 8 Tagen +	+	—	+	+	+	Spur n. 8 Tag. +	+	+	+	—
+	— n. 8 Tagen schwach +	+	Spur n. 8 Tag. —	+	— n. 8 Tag. Spur +	+	Spur nach 14 Tag. —	+	+	+	—
+	— n. 8 Tagen +	+	—	+	— n. 8 Tag. +	+	Spur nach 14 Tag. —	+	+	+	—

Über Massenausstreung von *Bacillus enteritidis* Gärtner.

Von

Dr. med. **Arno Trautmann**,

Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig.)

(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. F. Hofmann.)

(Bei der Redaktion eingetroffen am 13. April 1912.)

Während man früher den zur Ratten- und Mäusevertilgung dienenden Mäusetyphusbazillus für Menschen für völlig unschädlich hielt, konnte man in neuerer Zeit mehrfach beobachten, daß auch Menschen durch die Bakterienkulturen solcher Vertilgungsmittel unter den Erscheinungen eines Paratyphus oder einer schweren Enteritis erkrankten. So berichten **Trommsdorff**¹⁾ über mehrere durch Mäusetyphusbazillen verursachte Fälle von Cholera nostras, **G. Mayer**²⁾ über eine Selbstinfektion und **Shibayama**³⁾ über eine Epidemie von Menschenerkrankungen durch Mäusetyphus. Nachdem **H. Trautmann**⁴⁾ (Hamburg) auch den *Bacillus enteritidis* Gärtner als einen Rattenschädling und Rattenvertilger, und **Schern**⁵⁾ denselben Keim als den Erreger einer Rattenseuche erkannt hatten, stellten **Xylander**⁶⁾ und **Lebram**⁷⁾ den sogenannten Ratinbazillus als *Bacillus enteritidis* Gärtner fest. Ebenso besteht, wie wir durch **Steffenhagen**⁸⁾ erfahren, das Rattenvertilgungsmittel »Liverpoolvirus«, auf das in London zwölf Menschenerkrankungen zurückgeführt werden konnten, aus einer Bazillenkultur der Enteritidis Gärtner-

gruppe. Neuerdings wurde von S c h e r n⁹⁾ aus der Untersuchungsstation für animalische Nahrungs- und Genußmittel im Kgl. Polizeipräsidium zu Berlin Mitteilung gegeben über ein Ratten- und Mäusevertilgungsmittel »Virussanitar«, das als wirksamen Bestandteil Gärtnersche Enteritisbazillen enthielt.

Wie berechtigt es ist, bei Verwendung solchen Infektionsmaterials mit äußerster Vorsicht zu verfahren, kann eine folgende Beobachtung lehren, die ich in einer Großgärtnerei der hiesigen Gegend zu machen Gelegenheit hatte. Der Besitzer bezog, um sich vor den Schädigungen durch Ratten und Mäuse in seinem Besitztume zu schützen, das Präparat »Virussanitar«, das in Fläschchen mit 5 ccm Inhalt geliefert wird. Die Aufschrift lautet: Gesellschaft für Seuchenbekämpfung m. b. H., Frankfurt a. M. »Virussanitar«, Mittel zur Vertilgung von Ratten und Mäusen, 5 ccm Reinkultur, wirksam vom 14. IX. 11 bis 14. XI. 11. Diesem Fläschchen wird eine Glasröhre mit dunklem, sirupartigem Inhalte beigegeben mit der Aufschrift: Nährextakt A. 5 g. In 1 l warmem Wasser zu lösen. Nach der Gebrauchsanweisung soll dem gelösten Nährextakte der Inhalt des Fläschchens zugegeben, die Mischung geschüttelt und ungefähr 48 Stunden an warmem Orte (bei 20 bis 30° C) gehalten werden. Sodann wird in kleine Würfel geschnittenes Weißbrot mit diesem Präparate übergossen und an verschiedenen Stellen in Haus, Hof und Garten ausgelegt.

Die von mir Ende September 1911 ausgeführte bakteriologische Untersuchung des »Virussanitar« ergab morphologisch, kulturell und durch Agglutination Reinkultur von *Bacillus enteritidis* Gärtner. Die Angabe, daß das Präparat nach der auf dem Fläschchen vermerkten Frist unwirksam ist, wurde nicht zutreffend gefunden, indem auch noch nach sieben Monaten der *Bacillus enteritidis* Gärtner auf den Nährböden in üppigen Kulturen anging. Was jedoch die Schädlichkeit für Mäuse und Ratten betrifft, so läßt sie unter Hinweis auf die Tatsache, daß bereits 1906 T r a u t m a n n (Hamburg)⁴⁾ bei seinen Studien über Rattenvertilgungsmittel bei etwa 50% wilder Ratten, aber auch bei manchen zahmen Ratten und Mäusen volle Immunität gegen Gärtnerbazillen fand, es erklärlich erscheinen, daß sich die mir vor-

liegende Kultur für Mäusefütterung auch nach dreiwöchentlicher Darreichung als unschädlich erwies, während bei subkutaner Einführung einer einzigen Öse der Kultur das Tier bald zugrunde ging. Auch Aumann¹⁰⁾ hatte bei seinen vergleichenden Untersuchungen über die Wirksamkeit bakterieller Rattenvertilgungsmittel wenig befriedigende Ergebnisse; bei einer Anwendung von Bakterienkulturen in frischem Zustande erzielte er einen Erfolg von rund $33\frac{1}{3}\%$, bei Verwendung älterer Kulturen nur 20%. Trotz der vollkommenen Wirkungslosigkeit unseres Präparates im Fütterungsversuche wird nicht zu bestreiten sein, daß der Inhalt anderer derartiger Fläschchen hochvirulent für Tiere sein kann. In der Praxis ist zu berücksichtigen, daß die Bazillen der Typhus-, Paratyphus- und Gärtnergruppe ihre hohe Virulenz bei längerer Züchtung verlieren, auch völlig avirulent werden können, und daß andererseits diese Keime unter besonders günstigen uns unbekanntem Umständen ihre volle Giftwirkung wieder erlangen.

Jedermann wird verstehen, daß schon bei der Herstellung und Auslegung des infektiösen Materials durch die Hände der Laien eine weite Verbreitung der Keime möglich ist. Die Verschleppung wird weiterhin auch noch dadurch begünstigt, daß viele von den zu vernichtenden Tieren sich gegen die Bazillenkulturen immun erweisen und als gesunde Bazillenträger nunmehr auf lange Zeit an den verschiedensten Stellen die Krankheitserreger ausstreuen. Solche Verhältnisse sind um so mehr zu beachten, wenn, wie in vorliegendem Falle, das Infektionsmaterial, das also auch auf Menschen übertragbar ist, von einer Großgärtnerei aus auf Nahrungsmitteln wie Salat, Rettichen, Beerenfrüchten usw., die ungekocht zum Genusse gelangen, sich in den Kreis der Konsumenten Eingang verschafft. Wenn in der Gebrauchsanweisung gesagt ist, daß das Präparat ausschließlich für Ratten und Mäuse und andere Nager von tödlicher Wirkung, aber unschädlich für Menschen, Haustiere und Hausvögel ist, so kann diesem Satze auf Grund der vorstehenden Feststellung des *Bacillus enteritidis* Gärtner nicht beigestimmt werden. Es erscheint daher geboten, bei der Ratten- und Mäusevertilgung Kulturen, die morpho-

logisch, kulturell und biologisch identisch mit Krankheitserregern für Menschen sind, nicht oder nur mit äußerster Vorsicht anzuwenden und dieselben Verhaltensmaßregeln¹¹⁾, wie sie vom Reichsamt des Innern 1905 zur Verhütung von Gesundheitsschädigungen durch Beschäftigung mit Mäusetyphusbazillen gegeben und den Bundesregierungen mitgeteilt worden sind, streng zu beachten.

Literatur.

1. Trommsdorf, Über den Mäusetyphusbazillus und seine Verwandten. Arch. f. Hyg., Bd. 55, 1906, S. 279.
2. G. Mayer, Über die Verschleppung typhöser Krankheiten durch Ameisen und die Pathogenität des Löfflerschen Mäusetyphusbazillus für den Menschen. Münch. med. Wochenschrift 1905, S. 2261.
3. Shibayama, Über Pathogenität des Mäusetyphusbazillus für den Menschen. Münch. med. Wochenschrift 1907, S. 979.
4. H. Trautmann, Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger. Zeitschr. f. Hyg. und Inf. 1906, B. 54, S. 104.
5. Schern, Über eine durch d. Bac. enteritidis Gärtner hervorgerufene Rattenseuche. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, 30. Bd., 1909, S. 575.
6. Xyländer, Der Ratinbazillus als Rattenvertilgungsmittel. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, 28. Bd., 1908, S. 145.
7. Lebram, Ratinbazillus und Bac. enteritidis Gärtner. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 50, 1909, S. 315.
8. Steffenhagen, Untersuchung über das Rattenvertilgungsmittel «Liverpoolvirus». Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt 1911, Bd. 36, S. 198.
9. K. Schern, Über das Rattenvertilgungsmittel Virussanitar. Zentralbl. f. Bakt. 1912, Bd. 62, S. 468.
10. Aumann, Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit bakterieller und chemischer Rattenvertilgungsmittel. Zentralbl. f. Bakt. 1912 Bd. 63 S. 212.
11. Veröffentlichungen d. Kaiserl. Ges.-Amts 1905, S. 332.

Historische und experimentelle Untersuchungen über die Zichorie und den Zichorienkaffee in diätetischer und gesundheitlicher Beziehung.

Von
O. Schmiedeberg.

(Bei der Redaktion eingegangen am 25. April 1912.)

Die große Verbreitung des Zichorienkaffees in den weitesten Schichten der Bevölkerung fast aller Kulturländer rechtfertigt das Bestreben, über die Bedeutung dieses Genußmittels in diätetischer und gesundheitlicher Beziehung mit möglichster Sicherheit ins Klare zu kommen. Als ich mich aber vor einigen Jahren gutachtlich darüber äußern sollte, ob der Genuß dieses kaffeeartigen Getränkes gesundheitsschädlich sei oder nicht, da stellte sich heraus, daß diese Frage sich nicht ohne weiteres beantworten ließ, weil dazu die vorhandenen chemischen Untersuchungen nicht ausreichten und pharmakologische überhaupt fehlten. Das gab den Anlaß zur Ausführung der vorliegenden Untersuchungen, bei welchen es auch darauf ankam, die Grundlagen für die Beurteilung der Bedeutung dieses Genußmittels überhaupt zu gewinnen.

Es mußten für diesen Zweck besondere chemische und pharmakologische Untersuchungen über die Bestandteile sowohl der Zichorie wie des Zichorienkaffees ausgeführt werden. Es ergab sich dabei auch, daß die ökonomische und medizinische Geschichte der Zichorie mancherlei interessante Tatsachen bot, die für ihre

Beurteilung in mancherlei Hinsicht wertvoll sind, weil es sich bei der Anwendung der Zichorie als Gemüse und Arzneimittel gleichsam um Experimente an Menschen im großen Maßstabe handelt.

Es gibt bekanntlich zwei Arten der Gattung Cichorium, die Endivie, C. Endivia, und die Zichorie, C. Intybus. Die wild wachsende Form der letzteren wird auch Wegwart genannt.

Es fragt sich zunächst, ob im Altertum nur die Endivie oder auch die Zichorie als Gemüse oder Salat benutzt und angebaut wurden. Die Schwierigkeit, diese Frage zu beantworten, besteht darin, daß bei der Beschreibung oder bloßen Erwähnung der Pflanzen, die man für Endivie und Zichorie halten könnte, die verschiedensten Namen gebraucht und die Namen der Zichorienarten ganz verschiedenen Pflanzen beigelegt werden. Mit welchen Namen die Zichorie in früheren Zeiten bezeichnet worden ist, wird in der ersten der beiden Dissertationen von Camerarius - Hölderlin¹⁾ über die Zichorie auf Grund der Angaben und Ansichten zahlreicher Schriftsteller eingehend behandelt¹⁾.

Theophrast²⁾ nennt unter den Gemüse- und Salatpflanzen (λάχανα), die weder zu den wildwachsenden (ἄγρια), noch zu den in Gärten kultivierten (ἔμερα, κητεύομενα) gehören, sondern auf Feldern vorkommen oder gebaut werden (αρουραῖα) auch Kichorion (κικόριον) und Apape (ἀπάπη)²⁾. Herr Oberlehrer Dr. Bretzl, der mit der Bearbeitung des Theophrast in philologischer und botanischer Hinsicht beschäftigt ist, teilte mir freundlichst mit, daß κικόριον sicher Cichorium und ἀπάπη Löwenzahn ist, deren grundständige, bittere Blattrosetten noch gegenwärtig in Attika als Salat gegessen werden. Diese Ligulifloren seien bei Theophrast wahrscheinlich Feldgartenpflanzen (subspontane, ἀρουραῖα). Eine Gabelung in wild (Intybus) und zahm (Endivia) sei nach Herrn Bretzl zu unterlassen. Dennoch erscheint es mir nicht unwahrscheinlich, daß es sich bei κικόριον um

1) Dissertatio medica prior, de Cichorio, quam preside Dn. Elia Camerario publica ventilatione subjecit Hölderlin. Tubingae 1690.

2) Theophrasti opera. Edit. Wimmer. Leipzig, Teubner, 1854. t. I. hist. VII. 1. 1., VII. 6. 1. und VII. 7. 1.

Cichorium Jutybus handeln könnte. Da der Lattich von Theophrast unter den Gartenpflanzen genannt wird, so könnte unter diesen sich auch die Endivie finden und vielleicht unter den hist. VII. 4. 5. genannten, als Latticharten aufgeführten Garten- gewächsen zu suchen sein, während Cichorium Intybus sich auf den Feldern zusammen mit dem Löwenzahn vielleicht mehr geschont als direkt angebaut fand.

Wenn Horaz (Oden I. 31. 15, 16)), seine Genügsamkeit rühmend, sagt:

. me pascunt olivae
Me cichorea levesque malvae,

so ist in diesem Falle unter Cichorea wohl die Endivie zu verstehen.

Daß Seris bei Dioscorides¹⁾ Cichorium ist, scheint unbestritten zu sein. Er unterscheidet zunächst eine wildwachsende und eine kultivierte, breitblättrigere Art. Von der in Gärten wachsenden Seris führt er zwei Arten an, die eine ist breitblättrig, die andere schmalblättrig und schwach bitter. Es werden aber nur die arzneilichen Eigenschaften dieser Arten angegeben, nicht ihr Gebrauch als Salat.

K. Sprengel²⁾ hält die breitblättrige sowie auch die wildwachsende Art für Cichorium Intybus, die schmalblättrige für C. Endivia.

Galenus³⁾ nennt die Seris einen mäßig bitteren Salat, und noch bitterer sei die wilde Seris, die deshalb von einigen als picrida bezeichnet, von anderen aber Cichorium genannt werde.

Auf Grund dieser Angaben kann man wohl annehmen, daß beide Arten, die Zichorie sowohl wie die Endivie, bei den Griechen und Römern als Gemüse oder Salat im Gebrauch waren, hauptsächlich die Blätter. Doch sagt Theophrast ausdrücklich (Hist. VII. 9. 4.),

1) Dioscoridis materia medica. Edit. K. Sprengel. t. I. 275. lib. II, cap. CLIX, Vol. XXV, der Ausgabe der Werke der griechischen Ärzte von Kühn.

2) C. Sprengel, Commentarius in Dioscoridem a. a. O. t. II, p. 467.

3) Galenus, de simplicium medicamentorum temperamentis et facultatibus, liber VIII. cap. XVIII. 7. Edit. Kühn. Vol. XII p. 119. 1826.

daß nicht alle bitteren Wurzeln ungenießbar seien, was sich vielleicht auf die Zichorie bezieht.

In dem Werke von Ebn Baithar¹⁾, in welchem die Angaben der arabischen Ärzte über die einfachen Heil- und Nahrungsmittel zusammengestellt sind, ist Hinda b â unzweifelhaft Cichorium, von welchem zwei Arten, eine wilde und eine in Gärten gezogene, unterschieden werden. Nach Hamid ben Samhun hat die in Gärten wachsende Pflanze zwei Arten; eine davon hat lange Blätter, eine himmelblaue Blume und einen bitteren, widrigen Geschmack. Von dieser Art gibt es eine wilde, welche der andern in Form und Blüte ähnlich ist; nur ist sie stärker bitter und widriger und wird Abd el Amirun genannt. Die zweite dieser in Gärten wachsenden Pflanze, welche die Römer Intybus nennen und für die syrische Zichorie gehalten wird, hat weiße Blüten und einen faden, der Bitterkeit beraubten Geschmack. Bei dieser letzteren Art handelt es sich um die Endivie. Daß blaublühende Pflanzen auch eine weiße Blüte haben, ist nichts Ungewöhnliches. Da es von der anderen, in Gärten wachsenden Pflanze eine wilde Art gibt, so kann das nur Cichorium Intybus sein. Auch Ebn Amrân spricht von einer wilden, in Gärten wachsenden Art. Wenn Rhazes in seinem Werke über die Abwendung der Nachteile der Nahrungsmittel sagt, daß diese wilden Pflanzen weniger blähen und schärfer sind, so deutet das auf ihren Gebrauch als Gemüse hin. Es wird dann weiter in dem Werke von Ebn Baithar angegeben, daß die Zichorie, welche in Gärten wächst und Intybus genannt wird, in der Mitte zwischen Salat und (wilder) Zichorie steht.

Wie sehr neben der Endivie auch die Zichorie geschätzt wurde, ergibt sich aus dem Umstande, daß in dem Capitulare de villis et cortis imperialibus Karls des Großen unter den Pflanzen, welche in den kaiserlichen Gärten gezogen werden sollten, Intubae und Solsequium genannt werden. Die erstere ist nach

1) Ebn Baithar, Große Zusammenstellung über die Kräfte der bekannten einfachen Heil- und Nahrungsmittel. Aus dem Arabischen übersetzt von Dr. J. v. Sonthheimer. 2. Bd., S. 575. Stuttgart 1842.

Ernst Meyer¹⁾ Cichorium Endivia, Solsequium dagegen Cichorium Intybus. Da in dem Verzeichnis auch Arzneipflanzen aufgeführt werden, so läßt sich nicht entscheiden, ob die Zichorie als Salat und Gemüse oder für Heilzwecke gezogen werden sollte.

In der mir zugänglichen Literatur aus dem späteren **M i t t e l - a l t e r** und der neueren Zeit bis zum 17. Jahrhundert finden sich keine Angaben, die über die Frage Aufschluß geben, ob die Zichorie als Gemüse oder Salat in Gebrauch gewesen ist. Auch Leonhard F u c h s²⁾ macht darüber keine besonderen Angaben. Er faßt unter dem Namen **W e g w a r t** vier Arten zusammen: die Zichorie, die »recht Endivia«, die gelbblühende »dens leonis« oder das »Taraxacon« und den gelben Wegwart. Die letzteren beiden sind *Taraxacum officinale* und *Leontodon autumnalis*. Von dem »wilden blauen Wegwart« sagt er, daß seine Blüten »zu Zeiten gar schneeweiß« seien (vgl. oben S. 213). Er erwähnt dann, daß, wenn »allerlei Wegwarten« gesotten und mit Essig gegessen werden, sie »den Stuhlgang stellen«. Die wilden seien dem Magen besser und angenehmer. In dem mit dem Prädikat »Neu-Vollkommenes« betitelten Kräuterbuch³⁾ wird der Gebrauch des wilden sowie des zahmen oder Gartenwegwart, also der Zichorie und Endivie, als Salat und Gemüse ausführlich besprochen. Es heißt darin unter anderem: »Es wird heutigen Tages nicht allein der zahme sondern auch der wilde Wegwart in der Küche zur Speise gebraucht, obwohl der zahme anmüthiger ist. Man brauchet die Wurzel und das Kraut in dem Sommer zu den Saläten, desgleichen auch im Winter.« Dann heißt es weiter: »In Summa, man gebrauche die Wegwarten in der Speis wie man will, so sind sie dienlich in allen innerlichen Krankheiten des Herzens, Magens, der Leber, des Milzes und der Nieren, sonderlich aber in pestilenzischen Fiebern.«

1) Ernst Meyer, Geschichte der Botanik. 3. Bd., S. 397, 405 u. 409. Königsberg 1856.

2) Leonhard Fuchs, New Kreuterbuch. Basel 1543. cap. CCLXIII. Die farbige Abbildung der Zichorie auf Blatt Nr. 387.

3) New-Vollkommenes Kräuter-Buch. Die drei ersten Ausgaben von Matthioli (Mattioli), die vierte von Joach. Camerarius, die fünfte von Verzascha. Basel 1678. cap. 54, S. 229.

Auch im Volke war die Zichorie, wenigstens in Frankreich, als Gemüse und Salat beliebt, wie in der Geschichte der Pflanzen von J. Dalechamps¹⁾ ausdrücklich hervorgehoben wird. »L'Endivie et Cichorée sont bonnes à manger; car nos paisans les mangent crues et cuites.« »Les racines des Cichorées sauvages prises avec griotte sont bonnes à l'estomac.«

In der oben (S. 211) angeführten Dissertation von Camerarius und Hölderlin wird die botanische Geschichte der Zichorie ausführlich behandelt. Bei der Beschreibung der Pflanze, die in damaliger Zeit ganz allgemein Zichorie genannt wurde, findet auch die blaue Farbe der Blüte Berücksichtigung. Sie vergleichen dann ausführlich die charakteristischen und nebensächlichen Merkmale dieser einheimischen Zichorie mit der Beschreibung von Theophrast und kommen zu der Überzeugung, daß, entsprechend früheren, von S. Pauli gemachten Angaben eine vielfache Übereinstimmung zwischen beiden entsprechenden Pflanzen besteht, ohne einen bemerkenswerten widersprechenden Punkt. In der zweiten Dissertation behandeln Camerarius und Hölderlin²⁾ in der letzten These kurz die »Diätetik« der Zichorie. Der Anwendung für Speisen scheinere der bittere Geschmack entgegenzustehen, da, wie Heinrich Mundt aus dem Galen folgert, alle Speisen um so weniger nahrhaft seien, je mehr ihnen ein anderer Geschmack beigemischt sei. Sie suchen aber den Gebrauch der Zichorie als Salat trotz ihres bitteren Geschmacks zu rechtfertigen. Es gebe auch Nahrungsmittel, die man arzneiliche nennt, und die nicht sowohl der Ernährung als ihrer medizinischen Eigenschaften wegen empfohlen werden. Zu diesen könne man die Zichorie um ihrer heilsamen Wirkungen willen ungezwungen rechnen. Außerdem gebe es allgemein befolgte Verfahren, den Geschmack der Zichorie zu mildern, unter anderem durch Maceration, wobei auch das bittere, aber durch Gewohnheit sowohl angenehm schmeckende als auch heilsame Wasser erhalten

1) Histoire général des plantes. Sortie Latine de la Bibliothèque de M. Jaques Dalechamps, puis faite française par M. Jean des Moulins. t. I. p. 469. Lyon 1615.

2) Dissertatio medica posterior de Cichorio. Tübingae 1691. Vgl. oben S. 211.

werde. Es gebe verschiedene Zubereitungsarten; in der Heimat der Verfasser sei die Wurzel vorzugsweise ein Bestandteil von Salaten.

Eingehend werden die arzneilichen Qualitäten und die Anwendung der Zichorie mit Einschluß der Endivie und meist auch des Löwenzahns behandelt, im Altertum namentlich von Dioscorides, Plinius und Galen, und später in Anlehnung an diese von den arabischen Ärzten, deren Angaben und Ansichten in dem oben (S. 213) angeführten Werke von Ebn Baithar zusammengestellt sind. Die Zichorie galt als kalt und trocken, auch als adstringierend, und wurde für sich allein oder mit anderen Mitteln, namentlich bei Magen- und Leberkrankheiten, aber auch bei Nieren- und Blasenleiden sowie äußerlich, meist wohl zusammen mit anderen Mitteln, z. B. Bleiglätte, bei Entzündungen und brandigen Hautkrankheiten viel gebraucht.

Im Mittelalter bis in die neuere Zeit spielt die Zichorie in allen Werken über Arzneimittel aus dem Pflanzenreich eine große Rolle. Ausführlich werden dabei ihre galenischen Qualitäten, feucht, trocken, kalt, warm, die Kombinationen und Grade derselben, sowie ihre Elemente, Salz, Schwefel, Quecksilber und Erde im Sinne der Alchemisten erörtert. Man findet wohl kaum eine Krankheit, gegen welche die Zichorie nicht empfohlen und angewendet wurde. Nach der Zusammenstellung von Emanuel König¹⁾ ist sie ein Leberspezifikum, mäßigt dicke und heiße Galle, wird bei Fiebern, Hypochondrie, Podagra, Atrophie und Kachexie gelobt, besonders aber unterdrückt sie Blähungen, heilt den Ikterus, wirkt abführend, regt den Appetit an, der Saft und das Dekokt heilen Fieber und töten Würmer, die Wurzel, am Marienfest ausgegraben, stillt Blutungen. Das Zichorienwasser sei nach S. Pauli bei akuten Erkrankungen des Kopfes, bei Entzündungen der Lungen, der Brust (des Brustfells), des Herzens, der Leber ausgezeichnet; es heile auch den Ikterus, die Kardialgie und die Gonnorrhöe, lösche den Durst. Auch mancherlei äußerliche Leiden werden genannt, gegen welche

1) Emanuel König, *Regnum vegetabile. Sectio IV, de Facultatibus seu Viribus Materiae Medicae Vegetabilis in specie.* p. 788. Basel 1708.

die Zichorie sich als heilsam erweisen soll. Ein aus den Blüten durch Destillation gewonnenes Augenwasser schärfe den Gesichtssinn und beseitige die Trübungen.

Dieser universellen Anwendung der Zichorie entsprachen zahllose aus ihr bereitete Arzneipräparate. Es wurden aus den Blättern, Blüten, Samen und Wurzeln der wildwachsenden Pflanze Extrakte, einfache und zusammengesetzte Sirupe, Aufgüsse, Abkochungen, Essenzen, Konserven, Eingezeichnetes (condita), Säfte, destillierte Wässer und noch manche zusammengesetzten Arzneimittel bereitet.¹⁾ In dem Codex medicamentarius, sive Pharmacopoea Parisiensis vom Jahre 1758 sind acht solcher Präparate aus der Zichorie und zwei aus der Endivie aufgeführt.

Mit der Steigerung des Konsums von Zichorienkaffee hat die Anwendung der Zichorie als Salat und Gemüse sowie zur Herstellung von Arzneipräparaten immer mehr abgenommen. Nur in der französischen Pharmacopoe dienen noch Blätter und Wurzeln der wilden Zichorie zur Bereitung eines wässerigen Extrakts, eines zusammengesetzten Sirups und einer Tisane. Als Gemüse scheint die Zichorie gegenwärtig überhaupt keine Rolle zu spielen. Um so größer ist ihre ökonomische und diätetische Bedeutung als Kaffeesurrogat. Ihr Produktionswert im Deutschen Reich kann auf viele Millionen Mark jährlich geschätzt werden.

Wann und wo die Zichorie zuerst als Kaffeesurrogat Anwendung gefunden hat, habe ich nicht ermitteln können. Vor der Mitte des 18. Jahrhunderts ist bei keinem Schriftsteller diese Anwendung erwähnt. In den Leipziger Sammlungen vom Jahre 1756²⁾ findet sich ein kleiner Artikel unter dem Titel: »Nachricht von der Zichorienwurzel oder Hindläuffte, item Wegwart, zum Caffee zu gebrauchen, daß er ebenso wohlschmeckend als der ordentliche ist, so aussiehet und riechet, dabey weit gesünder ist.«

1) Die medizinische Geschichte der Zichorie wird auch in den vorstehend angeführten Kräuterbüchern und der Dissertatio medica posterior von Camerarius-Hölderlin eingehend behandelt.

2) Leipziger Sammlungen von Allerhand zum Land- und Stadt- etc. Wesen dienlichen Sachen. 141 Stück. Leipzig 1756. S. 781.

Der Verfasser, der in einer Anmerkung als »Hochfürstlicher Hofgärtner« zu Arnstadt bezeichnet wird, empfiehlt den Anbau und die Anwendung der Zichorie als Ersatz für die Kaffeebohnen, für welche »unendliche Summen aus unserem werthen Deutschland an fremde Örter« gingen. Einige bedienten sich, um »auf eine wohlfeile Art die Mode mitzumachen«, der Garten- oder Feldbohnen, Erbsen, Gerste, Hafer u. dgl., aber dieses alles sei von schlechtem Geschmack, hingegen hätte die Gartenzichorie etwas Vorzügliches, weil ihre angenehme Bitterkeit dem Kaffee näher als alles andere komme. Der Trank aus ihr sei auch viel gesünder als der Kaffee selbst, der starke Wallungen mache. Er gibt dann an, daß die Zichorie ebenso gebaut werde wie Petersilien oder Pasternatwurzel, und beschreibt das Trocknen und Rösten der Wurzel sowie die Bereitung des Kaffees, für welchen man einen Teil des Wurzelpulvers und einen Teil ordentlichen Kaffeemehls nehmen solle. Es findet sich aber weder in dem Artikel selbst noch in der ebenso langen Anmerkung eine Andeutung über die Frage, ob die Zichorie damals auch von anderen als Kaffeesurrogat empfohlen oder angewendet worden ist. Das scheint nicht der Fall gewesen zu sein.

L ö s e k e¹⁾ spricht im Jahre 1758 von der auf dem Felde wild wachsenden Zichorie, die ungemein bitter schmecke. Wenn sie aber in Gärten gebaut werde, so sei sie mehr schleimicht und weniger bitter. Daher werde auch das Kraut und die Wurzel in Salaten genossen. Von der Endivie berichtet L ö s e k e an einer anderen Stelle seines Buches²⁾. Die Zichorie wurde demnach damals wie früher in Gärten gezogen. Aber von einer Anwendung als Kaffeesurrogat ist bei ihm noch nicht die Rede. In der unter L i n n é s Leitung (Präsidium) im Jahre 1761 erschienenen Dissertation von S p a r s c h u c h³⁾ über den Kaffee aus den Kaffeebohnen werden auch die K a f f e e s u r r o g a t e aufgezählt,

1) Löseke, Abhandlung der auserlesensten Arzneimittel. Berlin 1758. S. 172.

2) a. a. O. S. 255.

3) S p a r s c h u c h, Potus Coffeae. Dissert. sub präsidio Car. S i n n a e i. In Bd. VI von Linnés Amoenitates academicae. Edit. II. Herausgegeben von Schreber. Erlangen 1786. p. 160.

und zwar: Erbsen, Bohnen, Bucheckern, Mandeln, Mais, Weizen, geröstetes Brot und die Samen von *Helianthus annuus*; die Zichorie ist aber nicht darunter, so daß dem Verfasser und Linné die Anwendung der letzteren als Kaffeesurrogat noch unbekannt war. Es ist aber nicht anzunehmen, daß es Linné entgangen wäre, wenn schon zu jener Zeit in irgendeinem Lande die Zichorie zur Bereitung von Kaffee gedient hätte.

Die ersten ausführlichen Nachrichten über die Einführung und den Gebrauch des Zichorienkaffees in Deutschland stammen von Christ. Gottlieb Förster¹⁾ aus dem Jahre 1773. Er erzählt, daß im Siebenjährigen Kriege die Frau des braunschweigischen Majors v. Heine, geb. Reichsgräfin v. Rantrow, von einer »Partey französischer leichter Völker« überfallen und ausgeplündert wurde, und infolge des Schreckens in ein Gallenfieber verfiel, gegen dessen Folgen kein Mittel half, bis der »hannöversche Äskulap«, der Leibmedicus Werlhof, bei der Dame durch den Genuß der abgekochten Zichorienwurzel und eines Teeaufgusses aus der getrockneten Wurzel eine Besserung herbeiführte. Da aber der tägliche Gebrauch der Wurzel ihr Ekel verursachte, so kam sie auf den Einfall, die getrocknete Wurzel wie Kaffee zu brennen. Werlhof erlaubte ihr, diesen Kaffee zu trinken. »Es wurde zuerst ein jämmerliches Getränk.« Sie verstand aber, es durch die richtige Menge der Zichorie auf die gewöhnliche Portion wohlschmeckender zu machen.

Der Verfasser, der in Braunschweig ansässig war, machte die Bekanntschaft dieser Dame, deren Gesundheit damals durch den Gebrauch der Zichorie fast völlig wieder hergestellt war. »Ein solches überzeugendes Beispiel von der gesunden Kraft der Cichorienwurzel machte gleich die Begierde« in ihm »rege, den Gebrauch derselben allgemeiner und nützlicher zu machen.«

Schon 20 Jahre vorher hatte man »in den französischen Kolonien hin und wieder ein Getränk aus gebrannten Zichorienwurzeln zubereitet; allein es war damals noch niemals zum Wohlgeschmack, sondern zur Arznei gebraucht.«

1) Christ. Gottlieb Förster, Geschichte von der Entdeckung und Einführung des Cichorien-Caffee. Bremen bey Georg Ludewig Förster. 1773.

Am 13. Februar 1770 erhielten F ö r s t e r und sein Kompagnon, der Major v. H e i n e , Gemahl jener Dame, von F r i e d - r i c h d. G r. eine »C o n s e s s i o n« auf sechs Jahre, vom 1. Oktober 1770 bis dahin 1776, »daß sie in Höchstdero Landen die Cichorienwurzel nach einer nur ihnen bekannten Art zum Gebrauch statt Caffee allein bauen, zubereiten und verkaufen, auch zu dem Ende Cichorien-Caffeefabriken in Berlin und anderen Orten anlegen dürfen«.

Vorher hatten die Professoren M a r g g r a f , G l e d i t s c h und P o t t den Auftrag erhalten, das Gesuch auf das Nützliche oder Schädliche gründlich zu prüfen und darüber ihr Gutachten abzugeben.

In der Konzessionsurkunde, die sehr ausführlich ist, wird hervorgehoben, daß ein Getränk aus der präparierten Zichorie aus »physikalisch-chemischen Gründen« nicht bedenklich, sondern der menschlichen Gesundheit weit zuträglicher als der Kaffee sei; »ohnehin aber jedermann die Freyheit behält, ob er Cichorienpulver oder ferner den wirklichen, obgleich der Gesundheit nicht so zuträglichen Caffee gebrauchen will.«

Die Konzessionsurkunde enthält ferner die Bestimmung, daß die »Entrepreneurs« gehalten sind, die Zichorienwurzel in den Königl.Landen zu bauen und zum Gebrauch statt Kaffee zu bereiten oder bauen und bereiten zu lassen; »mithin zum einländischen Bedarf weder Cichorienwurzel, noch das daraus zu präparierende Pulver aus fremden Landen einzuführen«. Es wurde in der Urkunde weiter bestimmt: »das Cichorienpulver nicht anders, als in Paqueten von ganzen Pfunden, in blau Papier, in Form eines Cylinders, an beiden Enden mit dem Stempel der Fabrique und annoch mit dem Accisstempel zu versehen.«

Ein »Avertissement von dem Gebrauch des von Sr. Königl. Majestät in Preußen allerhöchst approbirten privative privilegirten, vorzüglich befundenen preußischen Zichorienkaffe«¹⁾ hebt die Vorzüge und Vorteile dieses »preußischen Kaffees gegenüber dem aus-

1) Berlinische Sammlungen zur Beförderung der Arzneiwissenschaft, der Naturgeschichte, der Haushaltungskunst etc. III. Bd. IV. Stück. S. 406. 1771.

ländischen« aus Kaffeebohnen scharf hervor und empfiehlt ihn auf das dringendste.

Das Unternehmen schlug trotzdem fehl, anscheinend aus verschiedenen Gründen, die für die Geschichte des Zichorienkaffees einiges Interesse haben. Die Unternehmer ließen den Zichoriensamen durch Kommissionäre in Deutschland, England, Frankreich, Italien und Holland aufkaufen. Es wurde ihnen aber vielfach statt Zichoriensamen Endiviensamen geliefert, und sie bestellten mit dem letzteren, da sie beide Samenarten nicht unterscheiden konnten, ganze Felder. F ö r s t e r spricht von den »auf 20 Meilen um Berlin grünenden Endiviefeldern«.

Ferner war wegen der eigentümlichen Bestimmungen über die Besteuerung der Preis ihres Fabrikats ein verhältnismäßig hoher. Da der eingehende Kaffee (Kaffeebohnen) mit einer Steuer von »4 Groschen und 2 Pfennigen« belegt war, und »da ein Pfund aus Cichorienwurzel präpariertes Pulver ebensolange und weit zureicht, und eben die Dienste thut als 4 Pfund ungebrannter Caffee, so wird zur Deckung des Ausfalls bei der Accise vom Caffee, die Accise von ein Pfund Cichorienpulver auf 12 Gutegroschen festgesetzt«. Die Unternehmer durften mit Einbegriff der Akzise von 12 Gutegroschen ein Pfund Zichorienpulver nicht höher als für 22 Gutegroschen verkaufen. Bei Errichtung der Fabrik in Berlin wurde die Akzise auf 4 Gutegroschen (48 Pfennig) herabgesetzt. Aber auch nach dieser Herabsetzung mußten sie an Steuer mehr entrichten, als gegenwärtig der Verkaufspreis eines Pfundes gebrannter Zichorie beträgt. Endlich hatten F ö r s t e r und sein Teilhaber es auch mit einer anscheinend nicht unbedeutenden Konkurrenz zu tun. F ö r s t e r hebt in seinem Buche hervor, »daß viele sich selbst den Cichorienkaffee teils zu ihrem eigenen Gebrauch, teils zum Verkauf zubereiteten«. Es muß also schon in den Jahren 1770 bis 1773 der Anbau der Zichorie und ihre Anwendung zur Bereitung des »Kaffees« ziemlich verbreitet gewesen sein.

Auf Grund der Schilderung von F ö r s t e r könnte man annehmen, daß der arzneiliche Gebrauch der Zichorie den Anlaß zu ihrer Anwendung als Kaffeesurrogat gegeben habe. Auch eine

Stelle in der oben (S. 215) angeführten *Dissertatio posterior* von Camerarius-Hölderlin ließe vielleicht diese Annahme zu. Es heißt dort¹⁾, daß Friedr. Hoffmann das eingedickte Dekokt der Zichorienwurzel für besonders empfehlenswert gehalten habe, und daß nach Emanuel König dieses Dekokt mit dem aus den gerösteten Kaffeebohnen (*ex granis Bon torrefactis*) bereiteten Kaffee (*Coava*) an Geschmack wetteifere²⁾. Allein ein derartiger Ursprung der Anwendung der Zichorie als Kaffeesurrogat erscheint von vornherein unwahrscheinlich. Die rasche Verbreitung dieses populären Genußmittels spricht vielmehr dafür, daß die Anfänge seiner Anwendung im Volke selbst zu suchen sind. In welchem Lande und zu welcher Zeit die Zichorie neben anderen Kaffeeersatzmitteln zuerst in Gebrauch kam, wird sich wohl kaum mit Sicherheit ermitteln lassen, weil die betreffenden Schriftsteller von den bescheidenen Anfängen dieses Volksgenußmittels zunächst keine Notiz nehmen. Chevalliers³⁾ Angabe, daß die Fabrikation des künstlichen Kaffees aus der gerösteten Zichorie aus Holland zu stammen scheine, wo sie schon über ein Jahrhundert lang (also vor 1750) betrieben wurde, ist nicht näher begründet. Er bemerkt dann weiter, daß die Fabrikation bis zum Jahre 1801 ein Geheimnis blieb, wo sie dann in Belgien und Nordfrankreich eingeführt wurde. Für die von Hueppe⁴⁾ angeführten Daten, daß die Zichorienwurzel schon 1690 in Holland als Kaffeesurrogat verwendet wurde und das Fabrikationsgeheimnis 1765 nach Frankreich, 1770 nach Paris und bald darauf nach

1) p. 24. These XXVI.

2) In der oben (S. 216) angeführten Ausgabe von Emanuel Königs *Regnum Vegetabile* von J. 1708 habe ich diese Stelle nicht gefunden, sondern nur in Parenthese die Bemerkung, daß die Kaffeebohnen (*grana Bon*) durch das Rösten keine geringe abführende Wirkung erlangten (*non minimam ad deobstruendum vim acquirunt*; Sect. III, cap. VI, p. 578, de *Sapore Vegetabil. Amaro et Insipido*).

3) A. Chevallier, *Du café chicorée, son historique, sa fabrication, ses falsifications et de moyens de les reconnaître*. Journ. de chimie médicale. t. V. IIIe. Série. 1849, p. 276.

4) Hueppe, *Untersuchungen über Zichorie*. Berlin, Hirschwald, 1908. S. 7.

Deutschland kam, habe ich die Originalquellen nicht finden können. Bereits in den 80 er Jahren des 18. Jahrhunderts berichten die Schriftsteller, die einschlägige Themata behandeln, regelmäßig auch von dem Zichorienkaffee.

Im ganzen weiß man gegen seinen Genuß aus Gesundheitsrücksichten wenig einzuwenden. In der den beiden Unternehmern Förster und v. Heine ausgefertigten Konzessionsurkunde wird, offenbar auf Grund des Urteils der drei Gutachter Marggraf, Gleditsch und Pott (vgl. oben S. 220), sogar hervorgehoben, daß der Zichorienkaffee der menschlichen Gesundheit weit zuträglicher sei als der Kaffee. Bryant¹⁾ beurteilt ihn in dieser Hinsicht ebenfalls im ganzen günstig, indem er sagt: »Dieses ist zwar kein ungesundes Getränk, indessen gehen doch durch das Rösten viele von den guten Eigenschaften der Zichorienwurzel verloren.« Er hat dabei die guten Eigenschaften der »zarten kleinen Sprößlinge« und der »Blätter« der Zichorie im Auge, deren Anwendung als Salat er erwähnt. Murray²⁾ führt nur an, daß die geröstete Zichorie zwar frei von den Fehlern des Kaffees ist, zugleich aber auch die guten Eigenschaften des letzteren entbehrt. Er wirke erschlaffend und die Nerven schwächend. Fast komisch klingt ein Urteil aus dem Jahre 1783³⁾: »Wenn nun schon«, sagt der ungenannte Autor, »der gute Kaffee zum Theil durch sein häufiges brenzliches Öl zum Theil durch Zusatz von Zucker, Sahne und Milch mancherlei Nervenzufälle usw. erzeugt, was steht von dem erkünstelten zu erwarten?«

In der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts wird der Zichorienkaffee in gesundheitlicher Hinsicht außerordentlich verschieden beurteilt. Anfangs werden die Ansichten über die arzneilichen Wirkungen der Zichorie unmittelbar auf den Zichorienkaffee übertragen.

1) Bryant, Verzeichnis der zur Nahrung dienenden sowohl einheimischen als ausländischen Pflanzen. Aus dem Englischen mit vielen Anmerkungen und Zusätzen vermehrt. 2. Teil. Leipzig 1786. S. 47.

2) Jo. Andreas Murray, Apparatus medicaminum. Vol. I, p. 156. Goettingae 1793.

3) Almanach für Ärzte und Nichtärzte auf das Jahr 1783. Herausgegeben von Gruner. Jena 1783.

S a c h s¹⁾ z. B. glaubt aus seinen »mit großer Sorgsamkeit angestellten ärztlichen Beobachtungen mit großer Wahrscheinlichkeit schließen zu dürfen,« daß die Zichorienwurzel in ihrer medicamentösen Wirksamkeit etwas Ähnliches mit denjenigen Substanzen habe, die das Principium acre enthalten«. Er warnt daher vor dem Genuß des Zichorienkaffees in solchen Krankheiten, die mit Kongestionen und erhöhter Reizbarkeit zusammenhängen. Dahin rechnet er auch die Amaurose. »Daß sogar völlige Blindheit (Amaurosis) als Folge des Mißbrauchs von Zichorien beobachtet worden ist, ist ganz bekannt«, sagt er und führt diese Krankheit auf einen Kongestionszustand der Chorioidea zurück. Im Jahre 1817 hatte der Wiener Ophthalmologe Beer²⁾ angegeben, daß von ihm häufig beobachtete Fälle von Gesichtsschwäche einzig und allein von dem häufigen Genuß des Zichorienkaffees herrühren sollten. Auf Grund dieser Angabe von B e e r wird dann ohne jede weitere Begründung während des ganzen weiteren Verlaufs des 19. Jahrhunderts namentlich in den populären Veröffentlichungen über Nahrungs- und Genußmittel immer wieder die Behauptung wiederholt, daß der Zichorienkaffee nicht nur Gesichtsschwäche, sondern geradezu Amaurose verursache.

Nachdem man begonnen hatte, die Bestandteile der Zichorie und des Zichorienkaffees zu untersuchen und sie mit denen des Kaffees zu vergleichen, gelangte man zu den Grundlagen für eine zwar nicht immer zutreffende aber doch objektivere Beurteilung der guten und schlechten Eigenschaften dieses Kaffeesurrogats.

Nach P a y e n s³⁾ Untersuchungen enthält der Zichorienkaffee nur halb so viel stickstoffhaltige Substanzen als bei gleicher Intensität der Farbe der Kaffee. Das lasse ihn dem letzteren gegenüber minderwertiger erscheinen. Aber das könne vernachlässigt werden im Vergleich zu seiner Minderwertigkeit in bezug

1) S a c h s und D u l k, Handwörterbuch der praktischen Arzneimittellehre. 2. Teil. 1. Abteil. Königsberg 1832. S. 177 bis 183.

2) Vgl. L e w i n und G u i l l e r y, Die Wirkungen von Arzneimitteln und Giften auf das Auge. Berlin 1905.

3) P a y e n, Comptes rendus hebdom. de séances de l'Acad. des sciences. t. X XII, p. 731. 1846.

auf den Geschmack und das Aroma. K n a p p¹⁾, der den echten Kaffee sehr hoch bewertet, weil ihn die Sympathien der Masse des Volkes »zum Volksbedürfnis ersten Ranges erhoben haben«, spricht der Zichorie nur diese Bedeutung ab. Es sei in ihr so wenig als in den Rüben etwas entdeckt worden, was das Coffein zu ersetzen imstande wäre. Sie liefere aber einen stark gefärbten Absud, und zwischen »schwarzem« und »starkem« Kaffee werde von Unkundigen nicht unterschieden.

Julius L e h m a n n²⁾ kommt bei seinen Untersuchungen zu dem Resultat, daß das »emphyreumatische Öl« des Kaffees und auch das Coffein, wenn es in größeren Quantitäten darin enthalten ist, den Stoffwechsel verlangsame. Da man in den Kaffeesurrogaten beim Rösten »brenzlich-aromatische Stoffe erzeugt«, so »werden wir also wohl der indirekt ernährenden Kraft des Kaffees teilhaftig«, aber die wertvolle Wirkung auf das Gefäß- und Nervensystem gehe verloren.

In den 50er Jahren des 19. Jahrhunderts ändert sich die Beurteilung des Zichorienkaffees namentlich in gesundheitlicher Hinsicht wie mit einem Schlage. Man weiß ihm auch in anderer Beziehung nicht genug Übles nachzusagen. Den Anlaß zu dieser ungünstigen Beurteilung scheint ein Artikel des Arztes D e u t s c h³⁾ in Nikolai im Regierungsbezirk Oppeln gegeben zu haben. Dieser kurze Artikel ist für das Verständnis der vielen abfälligen Urteile über den Zichorienkaffee von besonderem Interesse und sei daher hier im Wortlaut mitgeteilt. Es heißt darin:

»Nachteilige Wirkung emphyreumatischer Stoffe.«

»Frauen aus den niederen Ständen, welche dem Genuß des Kaffees sehr ergeben sind und nicht die Mittel besitzen, sich hinreichende Quantitäten eines reinen, guten und kräftigen Kaffees

1) K n a p p , Die Nahrungsmittel in ihren chemischen und technischen Beziehungen. Braunschweig, Vieweg u. Sohn, 1848. S. 93.

2) Julius L e h m a n n , Über den Kaffee als Getränk in chemisch-physiologischer Hinsicht. Annal. d. Chem. u. Pharmac., Bd. 87, S. 205 und 275. Surrogate S. 289. 1853.

3) D e u t s c h , Medicinische Zeitung. Herausgegeben von dem Verein für Heilkunde in Preußen. 20. Jahrgang. 1851. S. 22.

zu verschaffen, begnügen sich mit verschiedenen Surrogaten, unter denen die geröstete Cichorienwurzel am bekanntesten ist; — doch werden auch Mohrrüben, Schwarzwurzel, Brod, Getreidekörner (besonders Sommerkorn) häufig dazu gebraucht. Die Hauptsache bei der Bereitung dieser Stoffe ist das Rösten, und namentlich der brenzlich-ölige Zustand, in welchen sie dadurch versetzt werden, und der sich bei allen fast auf gleiche Art durch einen eigentümlichen, nicht angenehmen, etwas öligen, entfernt säuerlichen Geruch zu erkennen gibt. Beurteilt man die Wirkung dieser Surrogate nach den Stoffen, woraus man sie bereitet, so hält man sie für die unschuldigsten Genüsse von der Welt. Sie sind es aber in der That nicht, und ihre Wirkung äußert sich bei anhaltendem und stärkerem Genusse sehr bestimmt. Zunächst erzeugen sie Sodbrennen und cardialgische Beschwerden, Appetitlosigkeit und sauern Geschmack im Munde, Übelkeit und Brechreiz im nüchternen Zustande, Stuhlverstopfung, unterbrochen durch zeitweilige, mit Kolik verbundene Diarrhöen; im höheren Grade bedeutende Muskelschwäche, Zittern der Hände, unruhigen und traumhaften Schlaf, krampfhaft empfindungen in den Unterschenkeln, häufiges sogenanntes »Einschlafen« der Glieder, Schwindel, rauschartige Umnebelung der Sinne, je sogar schwarzen Staar. — Alle diese Erscheinungen lassen sich besonders bei alten Weibern, die so häufig wahre Cichorienkaffee-Schwelgerinnen sind und nicht selten darin ihr Hauptnahrungsmittel finden, beobachten; — solche Personen aber sind in der That incurabel, denn sie wollen lieber ihr Leben lassen, als den ihnen unentbehrlich gewordenen Genuß. — Wie es möglich ist, ein in hohem Grade widerwärtig bitter, säuerlich und für den Ungewohnten ekelhaft schmeckendes Getränk — ohne Verbesserung seines Geschmacks durch irgendeinen Zusatz — an die Stelle einer gesunden, kräftigen, wenn auch einfachen Nahrung zu setzen, würde unbegreiflich sein, wenn nicht die empyreumatischen Öle eine mild anregende und in ihrer nächsten Folge die Nerven beschwichtigende Wirkung hätten, deren Einfluß sich nicht minder angenehm auf den Körper äußert, als mutatis mutandis der ächte Kaffee, der chinesische Thee, die Spirituosa, das Opium.«

Es ist schwer zu sagen, wie D e u t s c h zu dieser widerspruchsvollen und durch nichts begründeten Beurteilung des Zichorienkaffees gekommen ist. Er schreibt den empyreumatischen Ölen eine mild anregende und in ihrer nächsten Folge für die Nerven beschwichtigende Wirkung zu, deren Einfluß sich nicht minder angenehm auf den Körper äußere als der echte Kaffee. Er stellt also in bezug auf diese gute Wirkung die beim Rösten entstehenden Produkte der Zichorie und des echten Kaffees auf die gleiche Stufe. Dann müßte der »reine, gute und kräftige« Kaffee wegen dieser Röstprodukte ebenso schädlich sein wie der Zichorienkaffee und andere Kaffeesurrogate. Es scheint, daß D e u t s c h alle von ihm bei »alten Weibern« beobachteten Leiden ohne weiteres auf den reichlichen Genuß von Zichorienkaffee zurückführt. Manches hat er, wie den »schwarzen Star«, den Angaben anderer Schriftsteller entnommen und so eine große Anzahl von Beschwerden und Krankheiten zusammengebracht, um seinen Abscheu vor dem Zichorienkaffee in möglichst eindringlicher Weise zu kennzeichnen. Es würde nicht der Mühe lohnen, diesen Artikel von D e u t s c h überhaupt zu berücksichtigen, wenn die darin mit solcher Bestimmtheit vorgebrachten Behauptungen nicht einen so großen Einfluß auf die Beurteilung des Zichorienkaffees seitens der späteren, namentlich populären Schriftsteller ausgeübt hätten. Wenn v. B i b r a¹⁾ von der Zichorienwurzel, »als einem der vorzüglichsten Surrogate für den Kaffee«, anführt, daß sie, im Übermaß genossen, Sodbrennen, Magenkrampf, Gliederschwäche, Zittern und eine Menge anderer Erscheinungen hervorbringen soll, so hat er das offenbar dem Artikel von D e u t s c h entnommen, ohne daß er sich diesem in seinem Urteil anschließt. Das tut er aber drei Jahre später²⁾, indem er wie D e u t s c h den Geschmack des »Zichorieninfusums« schlecht und widerwärtig nennt; 3 bis 4 Tassen davon erregten ihm stets Übelkeit, Ekel, bisweilen selbst Schwindel. Er glaubt, daß dem flüchtigen, beim Rösten entstehenden Öl

1) v. B i b r a , Die narkotischen Genußmittel und der Mensch. Nürnberg 1855. S. 32.

2) v. B i b r a , Der Kaffee und seine Surrogate. München 1858. S. 78 und 79.

und dem Bitterstoff die betäubende oder ekelerregende Eigenschaft zukomme. Zugleich meint er, daß derselbe »betäubende Stoff« vielleicht »bei mäßiger Gabe einigermaßen die anregenden Eigenschaften des Kaffees ersetzt«. Man sieht, wie auch der um die wissenschaftliche Bearbeitung der Genußmittel so verdiente v. B i b r a sich dem Einfluß von D e u t s c h nicht entziehen kann.

R e i c h¹⁾ führt D e u t s c h an und zählt einfach die von diesem genannten Krankheiten und Leiden auf, welche der Genuß des Zichorienkaffees veranlassen soll. Die meisten übrigen Schriftsteller beschränken sich darauf, nur einzelne der von D e u t s c h genannten krankhaften Zustände hervorzuheben, oder nur ganz allgemein die Schädlichkeit zu betonen. Als Beispiel sei nur kurz folgendes angeführt. Der Zichorienkaffee verursacht Kopfschmerzen und Augenkrankheiten (K l e n c k e , 1854); die Zichorie soll mit mancherlei unheimlichen Gefahren unsere Gesundheit bedrohen (R u ß , 1868); die Zichorie wirkt mehr betäubend als angenehm erregend wie der Kaffee (O e s t e r l e n , 1876); die Zichorie enthält einen bitteren Milchsaft, der leicht in das Blut übergeht und Andrang desselben nach dem Kopf und Zittern erregt, bei stärkerem Gebrauch auch Schwindel und Erkrankungen der Augen verursachen soll (D i e t s c h , 1879); der bittere Stoff, ungemischt genossen, ist für viele, die nicht an denselben gewöhnt sind, nicht nur unangenehm, sondern auch in hohem Grade ekelerregend. Die Bestandteile der Zichorie erregen bei längerem Gebrauch Herzklopfen, Sodbrennen, Magenkrampf, Appetitlosigkeit, Säure im Munde, Gliederschmerzen, Zittern, Schlaflosigkeit usw. (S c h w a r z k o p f , 1881). E r i s m a n n (1885) nennt den Zichorienkaffee ein gemeines, C a t h o m a s (1906) ein wahres Spülwasser. Von manchem dieser Autoren wird die Schädlichkeit der Zichorie nicht unbedingt behauptet, sondern nur bei stärkerem oder längerem Gebrauch oder bei mangelnder Gewöhnung. F ü r s t , der anführt, welche Schädigungen der Gesundheit man der Zichorie »nachsagt«, nennt sie ein gutes Zusatzmittel zu einem an sich dünnen Bohnenkaffee. Der Gesamtaufguß enthalte dann nur wenig

1) R e i c h , Die Nahrungs- und Genußmittelkunde. 2. Bd. Göttingen 1860. S. 132.

Coffein und sei bei mäßigem Zichorienzusatz unschädlicher als reiner Bohnenkaffee. Nicolai¹⁾ schließt seine Besprechungen verschiedener Kaffeesurrogate mit der Bemerkung: »Da ist z. B. die alte ehrliche Zichorie, so viel geschmäht und doch so viel begehrt, sie hat sich seit mehr als einem Jahrhundert gehalten, sich ein gutes Hausrecht ersessen. Wenn ich sie auch nicht zu meinem Leibgetränk machen möchte, so bin ich doch weit entfernt, ihr zu nahe zu treten.«²⁾

Alle diese Behauptungen, daß der Zichorienkaffee in so hohem Maße Gesundheitsstörungen verursache, erweisen sich nach dem vorstehend Mitgeteilten als völlig unbegründet.

Gegen den seit dem Altertum üblichen Gebrauch der Zichorie als Gemüse und Salat ist niemals ein Einwand erhoben worden. Sie ist daher gesundheitlich nicht schädlicher als andere Küchengewächse. Auch die ausgedehnte Anwendung in den verschiedensten Zubereitungsformen als Arzneimittel spricht für diese Unschädlichkeit, da man in früheren Zeiten den Gebrauch giftiger und schädlicher Pflanzen zur Heilung von Krankheiten vermied. Es fragt sich nun weiter, ob diese sich aus der so vielseitigen Anwendung der Zichorie ergebende Unschädlichkeit auch mit den Eigenschaften und Wirkungen ihrer Bestandteile in Einklang steht.

Die bisherigen chemischen Untersuchungen der frischen und luftgetrockneten Zichorienwurzel beziehen sich im wesentlichen auf die gewöhnlichen Pflanzenbestandteile und sind für die hier zu behandelnde Frage nur in bezug auf den hohen

1) Nicolai, Der Kaffee und seine Ersatzmittel. Braunschweig 1901. S. 89.

2) Die 352 Seiten umfassende Monographie: *La Chicorée et divers produits de substitution du café*, par Camille Guillot, pharmacien de première classe. Paris 1911, die mir während des Druckes dieser Abhandlung in die Hände gekommen ist, enthält neben einigen historischen, mit dem Jahre 1771 beginnenden Daten, eine ausführliche Darstellung der naturgeschichtlichen, ökonomischen, industriellen und statistischen Verhältnisse der Zichorie, sowie die kurze Bemerkung, daß sie ihres mäßigen Preises wegen den ärmeren Klassen gestatte, hygienische und angenehme Getränke zu bereiten.

Inulingehalt der Wurzel von einiger Bedeutung, auf die wir weiter unten noch zurückkommen.

Daß diese Wurzel kein Coffein enthält, ist schon lange bekannt, und Knapp¹⁾ betont wegen dieses Mangels die Minderwertigkeit des Zichorienkaffees gegenüber dem Bohnenkaffee. Auch andere Purinverbindungen konnte ich weder in der gedarrten noch in der gerösteten Wurzel nachweisen. Eben so wenig enthält sie ein Alkaloid. Zwar bringt Phosphorwolframsäure in dem wäßrigen, durch Bleiessig von Gummi und Pflanzenschleim befreiten und dann entbleiten Auszug einen geringen Niederschlag hervor, der aber kein Alkaloid enthält. Die in der bekannten Weise durch Barythydrat aus der Phosphorwolframsäureverbindung freigemachte Substanz bildet nach dem Eindampfen der Lösung eine bräunliche Masse, die in Wasser sehr leicht, in konzentriertem Alkohol dagegen nicht löslich ist und sich mit Säuren nicht verbindet. Die Natur dieses sehr stickstoffreichen Körpers ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen. Deutliche Eiweißreaktionen gab die Substanz nicht. Aus 650 g gedarrter Zichorienwurzel wurden nach dem Ausschütteln des weiter unten beschriebenen Bitterstoffs nur 0,32 g dieser Substanz erhalten. Um sicher zu sein, daß sie für irgendeine Wirkung nicht in Betracht kommt, wie es ihrer geringen Menge wegen von vornherein fast als sicher erschien, wurden einem kleinen Kaninchen 0,45 g, entsprechend 914 g gedarrter Zichorie, unter die Haut eingespritzt. Es traten keinerlei Veränderungen in dem Verhalten des Tieres ein. Auch die Freßlust wurde nicht im mindesten beeinträchtigt.

Ein großes Interesse beansprucht der Stoff, welcher der frischen und gedarrten Zichorienwurzel den von altersher bekannten bitteren Geschmack erteilt. Er ist der einzige Bestandteil dieser Wurzel, von dem man eine besondere Wirkung erwarten konnte, der aber eigentümlicherweise noch nicht dargestellt und untersucht war. Nachdem ich durch geeignete Vorprüfungen festgestellt hatte, daß dieser Bitterstoff, den ich Intybinnen nennen will, sich in Wasser zwar schwer, aber doch in nicht ganz unbedeutenden Mengen löst, und aus dieser Lösung durch basisch-

1) Knapp, a. a. O. oben S. 225.

essigsäures Blei nicht gefällt wird, daß er ferner in Petroleumäther gar nicht, leicht dagegen in Essigester und Chloroform, schwer in Äther löslich ist, gelang es ohne besondere Schwierigkeiten, ihn in ausreichender Reinheit darzustellen und auf seine Eigenschaften und Wirkungen zu prüfen.

Die Darstellung des Intybins aus der gedarrten Zichorienwurzel läßt sich, diesem Verhalten entsprechend, am einfachsten in folgender Weise ausführen. Die feingemahlene Wurzel wird mit so viel Wasser angerührt, daß nach dem Aufquellen des Pulvers ein dünner Brei entsteht, den man dann mit einem Viertel seines Volumens Alkohol vermischt und unter wiederholtem Umrühren einen halben Tag stehen läßt. Hierauf wird die Flüssigkeit abgepreßt, der Preßrückstand nochmals in derselben Weise erst mit Wasser angerührt und dann mit Alkohol versetzt und wieder abgepreßt. Diese Flüssigkeiten, die das Intybin enthalten, werden vereinigt und mit Bleiessig versetzt so lange noch ein merklicher Niederschlag entsteht, den man nach dem Abfiltrieren der Flüssigkeit mit 20 bis 25% Alkohol enthaltendem Wasser auswäscht. Die vereinigten, alkalisch reagierenden, bleihaltigen Filtrate werden mit Schwefelsäure neutralisiert, vom gebildeten Bleisulfat abfiltriert und in flachen Schalen im Luftstrom eines kräftigen Zentrifugalventilators bei 20 bis 25 ° vom Alkohol befreit und eingeengt.¹⁾ Das Eindampfen auf dem Wasserbade ist nicht tunlich, weil sich die Flüssigkeit dabei wegen ihres Gehalts an Lävulose tief braun färbt.

Aus der eingeengten Flüssigkeit wird das Intybin durch Aufschütteln mit Essigester erhalten. Nach dem Waschen des letzteren durch Schütteln mit Wasser und Verdunsten bei gelinder Wärme hinterbleibt das Intybin als eine leicht gelblich gefärbte, amorphe Masse, die einen stark aber rein bitteren Geschmack hat, keinen Stickstoff enthält und ohne vorheriges Erhitzen mit Mineralsäuren direkt Kupferoxyd in alkalischer Lösung (Fehlingsche Lösung) reduziert. In Natriumcarbonat ist es unlöslich, leicht löslich in Kali- und Natronlauge. Die letzteren Lösungen werden

1) Vgl. die Beschreibung dieser Einrichtung bei Faust. Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. 51, S. 255, 1904.

bald dunkel und reduzieren jetzt Kupferoxyd in Fehlingscher Lösung bei gewöhnlicher Temperatur. Dieses Verhalten spricht dafür, daß der reduzierende Anteil dieses durch Alkalien leicht spaltbaren Glykosids Lävulose ist. Schüttelt man nach der Reduktion des Kupferoxyds die angesäuerte Flüssigkeit mit Äther aus, so hinterbleibt nach dem Verdunsten des letzteren eine gelb bis bräunlich gefärbte, harzartige Masse, die nicht mehr bitter schmeckt.

Nach diesem Verfahren gaben 650 g gedarrter und gemahlener Zichorienwurzel bei erschöpfender Extraktion mit wäßrigem Alkohol und sorgfältigem Ausschütteln der mit Bleiessig ausgefällten und im Luftstrom eingengtten Flüssigkeit mit Essigester 0,59 g Intybin, also nur 0,091%. Dieses Intybin ist aber noch nicht chemisch rein, sondern es ist ihm noch etwas einer harzartigen, in Wasser unlöslichen, nicht bitter schmeckenden Substanz beigemischt. Vielleicht ist es jenes Zersetzungsprodukt des Jutybins.

Man kann das letztere rein erhalten, wenn man es in viel Wasser löst, die sehr verdünnte Lösung filtriert und mit Essigester ausschüttelt. Der Rückstand nach dem Verdunsten des letzteren bildet eine glashelle, kaum merklich gelblich gefärbte, harzartige Masse. Die weitere chemische Untersuchung und die Elementaranalyse des Intybins unterblieben zunächst, da sie für den vorliegenden Zweck belanglos sind.

Auch die geröstete Zichorienwurzel enthält noch Intybin, aber anscheinend in geringerer Menge als die gedarrte. Für den Nachweis verfährt man zunächst in derselben Weise wie bei der Darstellung aus der gedarrten Wurzel, also: Herstellung eines wäßrig-alkoholischen Auszuges, Behandeln des letzteren mit Bleiessig, Einengen des neutralisierten Filtrats und Ausschütteln mit Essigester. Schwierigkeiten macht die Entfernung der Röstprodukte aus dem Rückstand nach der Verdunstung des Essigesters. Man behandelt den Rückstand mit Wasser und sucht ein klares Filtrat zu erhalten, was nicht ganz leicht ist. Zu diesem Filtrat setzt man Tierkohle und schüttelt gut um, wobei das Intybin an der letzteren haftet, während die Röst-

produkte zum größeren Teil in Lösung bleiben. Die Kohle wird auf einem Filter gesammelt und mit stark verdünntem Alkohol ausgezogen. Der Rückstand muß wieder mit Wasser behandelt, die Lösung mit Tierkohle geschüttelt und diese mit Alkohol ausgezogen werden. Man wiederholt dieses Verfahren mehrere Male, bis das Intybin von den Röstprodukten möglichst befreit ist. Die Verluste sind dabei sehr groß, so daß eine quantitative Bestimmung des Intybin nicht möglich war.

Das Resultat der quantitativen Bestimmung des Intybins in der gedarrten Wurzel ist schon an sich ausreichend, um die Unschädlichkeit dieses Bitterstoffes darzutun. Selbst wenn die Intybinmenge in der gerösteten Zichorienwurzel die gleiche wäre wie in der gedarrten, würde eine Tasse eines Aufgusses aus 2,5 g Zichorie doch nur 2,25 mg Intybin enthalten. Von einer schädlichen Wirkung einer solchen Menge kann natürlich nicht die Rede sein, selbst wenn das Intybin so giftig wie das Strychnin wäre und das übliche tägliche Maximum des Konsums des Zichorienkaffees erreicht oder sogar überschritten wird. Wie unschädlich das Intybin ist, haben folgende Versuche an Tieren erwiesen:

Einem kleinen Kaninchen von 1,3 kg Körpergewicht wurden 0,075 g Intybin, entsprechend 82 g gedarrter Zichorie, in 3 bis 4 ccm Alkohol von 25%, teils gelöst und teils aufgeschwemmt, unter die Haut eingespritzt. Als nach vier Stunden keine Wirkung sich bemerkbar machte, wurden dem Tier weitere 0,150 g Intybin, entsprechend 164 g Zichorie, in derselben Weise beigebracht. Es traten nicht die geringsten Veränderungen in dem Befinden des Tieres ein. Auch die Freßlust blieb ungestört. Die Gesamtmenge des dem Kaninchen beigebrachten Bitterstoffes von 0,225 g könnte kaum in 25 l Zichorienkaffee (1:100) enthalten sein.

Wenn demnach die gedarrte Zichorienwurzel völlig frei von schädlichen Bestandteilen ist, so fragt es sich weiter, wie sich in dieser Beziehung die beim Rösten entstehenden Produkte verhalten. Dabei kommen zunächst die flüchtigen Produkte in Betracht, die zum Teil in den Kaffeeaufguß übergehen,

seinen Geruch bedingen und seinen Geschmack beeinflussen. Diese Stoffe werden beim Rösten in so geringer Menge gebildet, daß es der bekannten Weltfirma Schimmel & Co. in Miltitz bei Leipzig nicht möglich war, meinen Wunsch zu erfüllen und etwas davon darzustellen. Das wäßrige Destillat der gerösteten Zichorie hat F. Wilhelm¹⁾ an sich selbst auf seine Wirksamkeit geprüft. Er destillierte 500 g Zichorienpulver mit Wasser und erhielt 800 ccm Destillat, das er nach dem Neutralisieren mit Natronlauge auf einmal nahm, ohne dadurch die geringste Wirkung auf seinen Puls oder auf andere Funktionen zu beobachten oder zu verspüren. Ebensowenig brachte bei ihm eine Abkochung aus 80 g Zichorie eine Wirkung hervor.

Von den anderen Röstprodukten kommen vor allem die in Betracht, welche einen bitteren oder bitter-aromatischen Geschmack haben und als R ö s t b i t t e r oder nach R e i c h e n b a c h als A s s a m a r bezeichnet werden. Es sind nicht chemisch einheitliche Körper, sondern Gemenge verschiedener, leicht veränderlicher, bräunlich oder gelblich gefärbter Stoffe. Für den vorliegenden Zweck kam es nur darauf an, alle Röstprodukte, soweit sie bitter schmecken, von anderen Bestandteilen möglichst zu trennen und auf ihre Wirkungen zu prüfen. Eine Untersuchung ihrer chemischen Natur war nicht beabsichtigt. Zur Darstellung größerer Mengen des Röstbitters standen mir 2,27 kg eines Extrakts zur Verfügung, welches von der oben genannten Firma Schimmel & Co. aus 202 kg gerösteter Zichorie mittels »Benzol« dargestellt war und von letzterem nur noch Spuren enthielt.

Zur Darstellung des Röstbitters wurde dieses Extrakt mit einer reichlichen Menge ungefähr 20% Alkohol enthaltenden Wassers stark durchgeschüttelt und dann Petroleumäther zugesetzt, um das Fett zu lösen, während das Röstbitter darin unlöslich ist. Nachdem bei längerem ruhigen Stehen die Petroleumlösung sich über der wäßrig-alkoholischen Schicht klar abgesetzt hat, wird die letztere mittels eines Hebers von jener ge-

1) F. Wilhelm, Ist das Kaffeol an der Kaffeewirkung beteiligt? Diss. Würzburg 1895.

trennt, die Petroleumlösung nochmals mit wäßrigem Alkohol durchgeschüttelt und dieser dann, nach der Trennung von der Petroleumlösung, mit der ersten Portion vereinigt. In dieser Weise gelingt es, die in der wäßrig-alkoholischen Flüssigkeit löslichen Röstprodukte von dem Fett vollständig zu trennen, ohne daß in dem letzteren von dem Röstbitter etwas zurückbleibt.

Die braun gefärbte Lösung wurde auf dem Wasserbade vom Alkohol befreit, filtriert, und das Filtrat viele Male bis zur Erschöpfung mit Essigester ausgeschüttelt, in welchem die bitter schmeckenden Stoffe leicht löslich sind. Die Lösung enthält auch gewöhnliche, saure Huminsubstanzen. Um diese, die keinerlei Bedeutung haben, von dem Röstbitter zu trennen, wurde die Essigesterlösung mit verdünnter Natronlauge gut durchgeschüttelt, der Essigester abgegossen, die alkalische Flüssigkeit wiederholt mit neuen Mengen Essigester geschüttelt, alle Anteile des letzteren zusammen durch Umschütteln mit Wasser vom Natron befreit und bei gelinder Wärme verdunstet. Es hinterbleibt eine klare, braune, sirupartige Masse, die aus einem Gemenge des Assamars von R e i c h e n b a c h (1844) und des in Äther löslichen Assamars von V ö l c k e l (1853) besteht. Da das Intybin, wie oben erwähnt ist, in ätzenden Alkalien löslich ist, so wird es bei der Behandlung der Essigesterlösung mit Natronlauge zusammen mit den Huminsubstanzen entfernt.

Das Röstbitter hat im möglichst wasserfreien Zustande die Konsistenz eines dicken, braunen Sirups, im feuchten Zustande ist es ölartig. Es reduziert sehr leicht Kupferoxyd in alkalischer Lösung und schmeckt nicht rein bitter wie das Intybin, sondern bitterlich-aromatisch und ein wenig teerartig.

Eine Probe dieses Röstbitters wurde zur Entfernung der letzten Spuren von Fett mit Petroleumäther behandelt und dann im Dampftrockenschrank getrocknet.

In dieser Weise wurden aus 220 g des Benzolextrakts, entsprechend 19,5 kg gerösteter Zichorie, 29,17 g fettfreies, trocken berechnetes Röstbitter erhalten.

Es fragte sich aber, ob alles in der Zichorie enthaltene Röstbitter in das Benzolextrakt übergegangen war, und wenn das nicht

der Fall war, welcher Zichorienmenge das Röstbitter des Extrakts entsprach. Deshalb mußte weiter untersucht werden, wie viel Röstbitter nach dem beschriebenen Verfahren direkt aus der gerösteten Zichorie erhalten wird. Es wurden von der letzteren 100 g durch Petroleumäther zuerst vom Fett befreit, dann nacheinander mit Äther, Essigester und zur Verdrängung des letzteren mit Alkohol extrahiert und nach dem Verdunsten der sämtlichen Extraktionsflüssigkeiten das Röstbitter in der angegebenen Weise durch Ausschütteln mit Essigester und Durchschütteln des letzteren erst mit Natronlauge und dann mit Wasser rein dargestellt. Es wurden dabei 0,140 g trockenes Röstbitter erhalten. Bei einer zweiten Bestimmung erfolgte die Extraktion der gerösteten Zichorie in erschöpfender Weise direkt mit Essigester, der dann mit Natronlauge und Wasser geschüttelt und verdunstet und der Verdunstungsrückstand durch Petroleumäther vom Fett befreit wurde. Es gaben 100 g Zichorie 0,162 g Röstbitter.

Es wurden bei den drei Bestimmungen an Röstbitter erhalten:

Aus dem Benzolextrakt, auf Zichorie berechnet . . .	0,149%
Direkt aus der Zichorie, 1. Bestimmung	0,140%
Direkt aus der Zichorie, 2. Bestimmung	<u>0,162%</u>
Im Mittel:	0,150%.

Nach diesen Ergebnissen war also das sämtliche in der Zichorie enthaltene Röstbitter in das Benzolextrakt übergegangen.

Eine Tasse aus 2,5 g Zichorie bereiteten Aufgusses oder einer Abkochung würde demnach nur 3,75 mg Röstbitter enthalten und die Gesamtmenge der Bitterstoffe nach Einrechnung von 2,25 mg Intybin (vgl. oben S. 233) 6,0 mg betragen. Schon diese geringen Mengen der gesamten Bitterstoffe lassen den Schluß zu, daß diese, selbst bei einem reichlichen Genuß von Zichorienkaffee, als völlig unschädlich anzusehen sind.

Um aber zu prüfen, ob das Röstbitter in größeren Mengen irgendeine Wirkung ausübt, namentlich auf den Magen bei Hunden, die gegen fremdartige Stoffe so empfindlich sind und diese durch Erbrechen entleeren, wurden folgende Versuche angestellt:

1. Einem Hunde wurden, trocken berechnet, 4,56 g Röstbitter, entsprechend 3040 g Zichorie in Milch verteilt mittels der Schlundsonde in den Magen eingeführt. Es stellten sich keinerlei Erscheinungen ein, die auf eine Wirkung hätten schließen lassen, namentlich trat kein Erbrechen ein und die Freßlust blieb völlig ungestört.

2. Ein kleiner Hund erhielt in derselben Weise 5,61 g Röstbitter, entsprechend 3740 g Zichorie in den Magen. Auch in diesem Versuche blieb, wie in dem vorigen, jede Wirkung aus.

3. Einem Kaninchen wurden, ebenfalls trocken berechnet, 2,40 g Röstbitter, entsprechend 1600 g Zichorie, unter die Haut eingespritzt. Es erfolgte nicht die mindeste Wirkung.

Daß diese Unschädlichkeit auch für das wiederholt erwähnte Benzolextrakt im ganzen zutrifft, ergab folgender Versuch:

Einem Hunde wurden 11 g von diesem Extrakt, nachdem aus ihm die letzten geringen Reste von Benzol durch Erwärmen auf dem Wasserbade entfernt waren, in Form einer Emulsion in den Magen eingeführt. Diese Menge Extrakt, die 970 g Zichorie entsprach, brachte ebenfalls nicht die mindeste Wirkung hervor, verursachte weder Erbrechen noch Beeinträchtigung der Nahrungsaufnahme.

Man kann Hunde auch wochenlang mit einer Nahrung füttern, welcher reichliche Mengen einer Abkochung von gerösteter Zichorie zugesetzt sind, ohne daß die Tiere einen Widerwillen gegen dieses Futter zeigen oder ihre Freßlust verlieren oder in ihrer Ernährung beeinträchtigt werden.

Die vorstehend beschriebenen chemischen und pharmakologischen Untersuchungen haben in völliger Übereinstimmung mit den bei der Anwendung der Zichorie als Gemüse und Arzneimittel und im Gegensatz zu den unbegründeten ungünstigen Beurteilungen des Zichorienkaffees zu dem unzweideutigen Ergebnis geführt, daß in der Zichorienwurzel weder vorgebildete Stoffe enthalten sind, noch beim Rösten Produkte entstehen, welche bei dem Genuß des Zichorienkaffees, wie er gewöhnlich üb-

16**

lich ist, die Gesundheit zu schädigen geeignet sind.

Diese Unschädlichkeit teilt der Zichorienkaffee mit vielen anderen Kaffeesurrogaten, und dennoch nimmt er unter diesen eine Sonderstellung ein. Die Zichorie allein hat eine allgemeine, man kann sagen universelle Verbreitung und Anwendung gefunden und sich diese erhalten. Sie ist als Kaffeesurrogat in die weitesten Schichten aller Kulturvölker ohne jede Reklame, gleichsam von selbst eingedrungen, wie dies in ähnlicher Weise bei allen anderen Genußmitteln von universeller Bedeutung, dem echten Kaffee, dem Tee, der Schokolade und dem Tabak, der Fall gewesen ist. Diese Sonderstellung der Zichorie unter den übrigen Kaffeesurrogaten weist darauf hin, daß der Zichorienkaffee besondere Eigenschaften und Wirkungen haben muß, die seinen Genuß erwünscht machen.

Die von verschiedenen Schriftstellern geäußerte Ansicht, daß der Zichorienkaffee erst infolge der Kontinental Sperre zu Anfang des 19. Jahrhunderts seine große allgemeine Verbreitung gefunden habe, kann wohl in der Hauptsache als zutreffend anerkannt werden. Daher wurde dieser Kaffee auch Kontinentalkaffee genannt. Die Verhinderung der Einfuhr der Kaffeebohnen kann wohl zur Verbreitung der Zichorie beigetragen haben, sie ist aber sicherlich nicht der Grund, daß dieses Genußmittel sich die Gunst mehr oder weniger in allen Ländern dauernd erhalten hat. Andere Kaffeesurrogate, von welchen *Laubender*¹⁾ im Jahre 1806 nicht weniger als 42 nennt, haben diese große Verbreitung auch während der Kontinental Sperre nicht gefunden und sind allmählich nacheinander mehr oder weniger vollständig wieder verschwunden. Trotz aller Reklame kann auch gegenwärtig kein anderes Surrogat sich mit der Zichorie messen. Es fragt sich daher, was der Grund für diese bevorzugte Stellung des Zichorienkaffees ist, und welche besondere Be-

1) Das Buch von Dr. Bernhard *Laubender*, das ich im Original nicht kenne, führt den Titel: »Der Kaffee und seine 42 Surrogate, als ein Beitrag, sich und seinem Vaterlande jährlich eine große Summe Geldes zu erhalten«. Nürnberg und Altdorf, bei Mouth und Kaßler, 1806. 173 Seiten.

deutung sein Genuß für den menschlichen Organismus hat. Dabei muß man unterscheiden, ob die Zichorie als Zusatz zu dem Bohnenkaffee dient oder als reiner Zichorienkaffee genossen wird. Im ersten Falle hat der Zusatz den Zweck, einerseits die Farbe des Kaffees zu verbessern und andererseits den Geschmack kräftiger zu machen. Durch beides wird für viele Personen die Appetitlichkeit eines Kaffees erhöht, der aus weniger feinen Sorten der Kaffeebohnen als dünner, schwacher Aufguß bereitet wird. Ein solcher Bohnenkaffee sieht nach Zusatz von Milch grau-bräunlich aus und hat auch nach dem Versüßen mit Zucker einen fast faden Geschmack. Ein Zusatz von Zichorie macht den Geschmack kräftiger und gibt auf Vermischen mit Milch und besonders mit Sahne der Farbe einen lebhafteren goldbraunen Ton. Dazu ist nur wenig geröstete Zichorie erforderlich. Auf die stark färbende Eigenschaft der letzteren deutet die der Besteuerung zugrunde gelegte Annahme in der oben (S. 221) erwähnten Konzessionsurkunde hin, daß ein Pfund aus Zichorienwurzeln präpariertes Pulver ebenso weit reiche wie vier Pfund Kaffee, d. h. daß man aus einem Teil Zichorienpulver einen gleich dunkel gefärbten Aufguß bereiten kann, wie aus vier Teilen gerösteter Kaffeebohnen. Später weist, wie bereits oben (S. 225) erwähnt, K n a p p auf das starke Färbevermögen der gerösteten Zichorie hin. Diese Eigenschaft verdankt die letztere dem Gehalt der Wurzel an Inulin, das, wie wir sehen werden, auch in anderer Beziehung in diesem Kaffeesurrogat eine wichtige Rolle spielt.

Hueppe¹⁾ fand bei der Analyse von sieben Proben, die aus Deutschland, Österreich und Belgien stammten, in der lufttrockenen Zichorienwurzel bei einem Wassergehalt von 8% im Durchschnitt 56,85% Inulin, mit einem Minimum von 51,71 und einem Maximum von 59,72%. Der Inulingehalt der bei 100° getrockneten Wurzel betrug im Mittel 61,83%, die Menge des reduzierenden Zuckers 6,26%. Die trockene, geröstete Zichorie enthält im Durchschnitt 12,66% Inulin und 16,61% reduzierenden Zucker, das macht für das Inulin 20,47% der Menge in der nicht gerösteten Wurzel, so daß 79,53% verändert sind. Dieser Betrag stellt sich

1) Hueppe, a. a. O. oben S. 222.

noch etwas höher, da beim Rösten die gebildeten flüchtigen Produkte zum Teil verloren gehen, so daß dadurch die absolute Menge der Trockensubstanz vermindert wird. Doch ist das für die Beurteilung der Bedeutung der Röstprodukte ohne Belang. Soweit sich das übersehen läßt, entstehen beim Rösten Lävulose, dextrinartige Stoffe, teerartige Produkte, Huminsubstanzen und verkohlte Massen. Der Grad von Verkohlung läßt sich auf Grund der Analysen von H u e p p e sehr deutlich übersehen. Bei stärkerer Verkohlung sind der Inulingehalt und die Menge des Wassereextrakts geringer als bei schwächerer Röstung. In drei Analysen betrug der Inulingehalt im Mittel 6,39%, die Extraktmenge 64,19%, in den vier anderen Analysen der erstere 17,37%, die letztere 73,46%.

Für die Beurteilung des reinen Zichorienkaffees kommen folgende Bestandteile in Betracht:

Die Lävulose, die dextrinartigen Stoffe, das Intybin und Röstbitter und die in Wasser löslichen oder leicht aufschwemmbar teerartigen Produkte.

Von diesen Stoffen hängt zunächst der Geschmack des Zichorienkaffees ab, der bei richtiger Zubereitung des letzteren keineswegs so schlecht ist, wie er von einzelnen Schriftstellern gemacht wird. Bei mäßigem Rösten der Wurzel schmeckt er rein bitter und süß, sowie etwas aromatisch, hat aber weder einen ausgesprochen angenehmen noch einen unangenehmen Duft. Bei stärkerem Rösten dagegen erleiden auch die Eiweißstoffe eine tiefergehende Zersetzung, wobei unangenehm riechende und schmeckende Produkte entstehen. Das Rösten müßte, um die Bildung der letzteren zu vermeiden, bei einer ganz bestimmten, konstanten Temperatur in geschlossenen Röstapparaten vorgenommen werden. Das Temperaturoptimum ließe sich durch besondere Versuche ermitteln, ebenso der geeignetste Feuchtigkeitsgrad der luftgetrockneten Wurzeln. Ein Bewegen des Apparates, wie das Drehen einer Rösttrommel, wäre bei einer konstanten Temperatur nicht erforderlich.

Ein Aufguß aus einer zweckmäßig gerösteten Zichorie gäbe zwar kein den Feinschmecker befriedigendes Genußmittel, hätte aber keineswegs einen unangenehmen oder gar »widerlichen« Geschmack.

Charakteristisch ist für die Zichorie, daß sie gleichzeitig Inulin und einen vorgebildeten Bitterstoff, das Jutybin, enthält. Die leicht veränderliche Lävulose, die aus dem Inulin entsteht, bildet im Vergleich zur Stärke und anderen Kohlehydraten reichliche Mengen von Röstprodukten, namentlich auch von Röstbitter, während z. B. geröstete Getreidearten und Malz nur verhältnismäßig wenig davon enthalten. Zu den aus dem Inulin entstehenden Produkten kommt dann noch das Intybin. Da das Inulin nur in den Wurzeln der Kompositen vorkommt, so würde von diesen allenfalls der Löwenzahn, der ebenfalls Inulin und einen Bitterstoff enthält, der Zichorie an die Seite zu stellen sein, falls er sich wie diese kultivieren ließe.

Da der Zichorienkaffee keinerlei Stoffe enthält, die durch ihren Übergang in das Blut eine Wirkung hervorbringen könnten, so muß seine Bedeutung nur darin gesucht werden, daß er auf die Verdauungsvorgänge einen günstigen Einfluß ausübt. Es sind vor allem das Intybin und das Röstbitter, die dabei eine Rolle spielen.

Die Bedeutung der bitteren Mittel für die Magenverdauung haben insbesondere Versuche nach dem Verfahren der sogenannten Scheinfütterung dargetan. Dieses Verfahren besteht bekanntlich darin, daß an Hunden der Ösophagus derartig durchschnitten und verheilt ist, daß die Nahrungsstoffe, welche das Tier verschlingt, nicht in den Magen gelangen, sondern durch den mittels einer Fistel nach außen mündenden oberen Teil des Ösophagus wieder nach außen entleert werden. Außerdem ist den Tieren eine einfache Magenfistel angelegt, oder nach dem Verfahren von Pawlow durch eine Operation von dem Hauptmagen ein von diesem abgeschlossener, völlig normal innervierter Nebemagen abgetrennt, der durch eine Fistel nach außen mündet. Versuche an solchen Hunden haben ergeben, daß bei dieser Scheinfütterung durch das bloße Verschlingen, also auf reflektorischem Wege, eine Magensekretion nur durch solche Nahrungsmittel hervorgerufen wird, welche den Appetit des Hundes reizen. Bei den Versuchen mit den bitteren Mitteln hat sich ergeben, daß ihre Bedeutung für die Verdauung

zum großen Teil von ihrem bitteren Geschmack abhängt. Es genügt, den Mund und Rachen des Hundes mit einer bitteren Flüssigkeit auszuspülen, um bei der darauf folgenden Verabreichung von Fleisch eine, im Vergleich mit der nach Fleischfütterung ohne Bitterstoffe, sehr erhebliche Vermehrung der Absonderung des Magensaftes und dadurch eine verstärkte Verdauungskraft des Magens hervorzurufen. Die Bitterstoffe sind demnach sicherlich auch am Menschen appetiterregende Mittel. Der vermehrte Appetit ist dann mit einer gesteigerten Sekretion des Magensaftes und einer verstärkten Verdauung verbunden. Damit ist aber die Bedeutung der bitteren Mittel noch nicht erschöpft.

Eine andere, vom Munde ausgehende reflektorische Wirkung besteht darin, daß die Magenbewegungen verstärkt werden. Man kann das leicht an sich selbst bestätigen. Wenn bei hastigem Verschlucken von Nahrungsmitteln und Getränken Luft in den Magen gelangt ist und wegen mangelnder Magenbewegungen durch Aufstoßen nicht entleert wird, so braucht man nur den Mund mit Wasser auszuspülen, dem einige Tropfen einer bitteren Tinktur zugesetzt sind, um nach wenigen Minuten eine Entleerung der Luft durch Aufstoßen herbeizuführen. Das gleiche gilt von den Gasen, die im Magen durch Gärungsvorgänge entstanden sind. Doch darf der Magen infolge krankhafter Veränderungen gegen diesen Reflex nicht unempfindlich geworden sein.

Diese reflektorischen Wirkungen der bitteren Mittel hängen nicht davon ab, daß der bittere Geschmack angenehm empfunden wird. Hunden ist er höchst unangenehm und sie sträuben sich energisch, wenn man ihnen bitter schmeckende Stoffe beibringen will. Dennoch wirken diese Mittel auch bei ihnen appetiterregend. Das ist für die Beurteilung des Zichorienkaffees von großer Bedeutung. Es folgt daraus, daß seine appetiterregende Wirkung nicht ausbleibt, auch wenn sein Geschmack infolge unzüweckmäßiger Zubereitung (vgl. oben S. 240) wenig angenehm ist.

Aber nicht nur reflektorisch, sondern auch direkt auf den Magen und Darmkanal erstreckt sich der

günstige Einfluß der Bitterstoffe. Nach ihrer Aufnahme entsteht im Magen eine eigenartige, dem Wärmegefühl vergleichbare Empfindung, und bittere Tinkturen vermögen in vielen Fällen leichtere Magenbeschwerden zu beseitigen. Es ist wahrscheinlich, daß sie hier, wie im Munde, auf bestimmte Nerven wirken. Es sei noch erwähnt, daß unter dem Einfluß der Bitterstoffe anscheinend reflektorisch vom Magen aus die Zahl der Leukocyten im Blute vermehrt wird (Pohl, 1888), welche nach Hofmeister (1887) teilweise den Transport der verdauten Eiweißstoffe aus der Darmwand in den Kreislauf besorgen.

Schließlich ist auch die gärungs- und fäulnishemmende Wirkung des Zichorienkaffees sehr beachtenswert. Ihr günstiger Einfluß kann sich bis in den Darm hinein erstrecken. In wie bedeutendem Grade der Zichorienkaffee den Eintritt der Fäulnis zu verhindern vermag, zeigt beispielsweise folgender Versuch. Es wurden 7,5 g frisches gehacktes Fleisch in 200 ccm eines aus 2,0 g gerösteter Zichorie bereiteten Aufgusses gebracht und im Brutofen bei 38° gehalten. Nach zehn Tagen, solange die Beobachtung dauerte, war noch keinerlei Zeichen von Fäulnis eingetreten.

Alle diese Wirkungen des Zichorienkaffees können bei seinem regelmäßigen Genuß in vielen Fällen von großem Nutzen sein. Namentlich wird das in jenen Volkskreisen der Fall sein, die Tag für Tag und jahrein und jahraus auf eine verhältnismäßig einförmige Kost angewiesen sind, sowohl in bezug auf die Art der Nahrungsmittel als auch hinsichtlich ihrer Zubereitung. In diesen Fällen wird durch die Anregung des Appetits die Aufnahme der Nahrung mit größerem Behagen erfolgen und ihre Verdauung im Magen leichter und rascher verlaufen. Wenn dann noch wegen der Beschaffenheit der Nahrung oder infolge von ungenügender Reinlichkeit bei ihrer Zubereitung oder ihrer Aufnahme die Veranlassung zu Gärungsvorgängen im Verdauungskanal gegeben ist, so kann der Zichorienkaffee ihre Entwicklung verhindern.

Es gibt zahlreiche andere Mittel, welche die gleiche günstige Wirkung auf den Appetit und die Verdauung auszuüben imstande

sind wie der Zichorienkaffee. Dahin gehören vor allem die Gewürze, die bei der Zubereitung und Aufnahme der Nahrung in allen Bevölkerungskreisen die bekannte große Rolle spielen. Aber abgesehen davon, daß ihre Wirkung eine einseitigere ist, weil sie Gärungs- und Fäulnisvorgänge im Magen und Darmkanal zu unterdrücken nicht geeignet sind, kann ihr dauernder und nicht zweckmäßig eingeschränkter Gebrauch auch direkt schädlich werden. Sie bewirken an der Magenschleimhaut eine Reizung, die leicht zur Entstehung von Katarrhen und durch Überreizung zu atonischen Zuständen des Magens führt.

Das Intybin und Röstbitter des Zichorienkaffees können durch andere ungiftige bittere Mittel ersetzt werden, z. B. durch Schafgarben- oder Kamillentee. Aber auch sie wirken einseitiger als der Zichorienkaffee und werden wohl niemals einen ähnlichen Gebrauch finden wie der letztere. Daß kein anderes, praktisch in Betracht kommendes Kaffeesurrogat die Zichorie zu ersetzen vermag, darauf ist schon oben (S. 240 u. 241) hingewiesen.

Das vorstehend Gesagte kann man zum Schluß in den Satz zusammenfassen:

Der Zichorienkaffee eignet sich zum täglichen Gebrauch, weil er, in der üblichen Weise genossen, unschädlich ist und in vielen Fällen seine appetiterregende, die Verdauung befördernde und gärungs- und fäulniswidrige Wirkung von großem Nutzen sein kann.

Beiträge zur Bedeutung der Muchschen Granula im Sputum Tuberkulöser.

Von
Kreisassistentenarzt Dr. **Marmann.**

(Aus dem Kgl. Medizinal-Untersuchungsamt Koblenz. Vorsteher: Kreisarzt Dr. Hilgermann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 9. Mai 1912.)

Im Jahre 1907 berichtete *M u c h* in den Beiträgen zur Klinik der Tuberkulose (Bd. VIII S. 85), daß es ihm gelungen sei, in tuberkulösem Material (Drüsen, Eiter usw.), in welchem bei Anwendung der üblichen Ziehl-Neelsenschen Färbemethode Tuberkelbazillen nicht gefunden werden konnten, durch Anwendung einer modifizierten Gramfärbung eine grampositive, nach *Z i e h l* nicht darstellbare virulente Form des tuberkulösen Virus nachzuweisen. Dieselbe präsentierte sich als feinste Granula, die teilweise in Stäbchenform, teilweise zu zweien, teilweise unregelmäßig zusammen oder einzeln lagen; ein andermal waren die Granula stäubchenförmig über das Gesichtsfeld verteilt.

Diese Beobachtungen *M u c h s* boten zunächst ein hohes theoretisches Interesse für die Frage nach der Struktur und Biologie des tuberkulösen Virus und mußten in zweiter Linie von größter praktischer Bedeutung sein. Denn bei Bestätigung der *M u c h s*-schen Befunde hätte man auch in vielen Fällen von Tuberkulose, in denen mittels der gewöhnlichen Färbemethoden der mikro-

skopische Nachweis der Tuberkelbazillen mißlang, ein diagnostisches Hilfsmittel zur Hand gehabt.

Es war daher leicht erklärlich, daß nach der M u c h s c h e n Veröffentlichung zahlreiche Autoren die von ihm gemachten Beobachtungen nachprüften.

Es galt vor allem, zwei Fragen zu entscheiden:

1. Findet sich bei Tuberkulose die von M u c h s c h e n beobachtete grampositive, granuläre Form und ist dieselbe für Tuberkulose spezifisch?
2. Gibt es Fälle von Tuberkulose, in denen nur diese granuläre, nicht aber die nach Z i e h l darstellbare Form nachweisbar ist?

Was zunächst die erste Frage anlangt, so konnten im allgemeinen sämtliche Autoren, welche sich mit der Nachprüfung der M u c h s c h e n Befunde befaßten, sowohl bei der Untersuchung von Reinkulturen als bei der Bearbeitung von anderem tuberkelbazillenhaltigen Material beobachten, daß der Tuberkelbazillus bei Anwendung der Gramschen Färbung sich meist als eine Reihe grampositiver Körnchen darstellt, während die Grundsubstanz nur schwach oder gar nicht gefärbt erscheint. Die Zahl der Granula schwankte; meist waren es mehrere in Stäbchenform liegende, zuweilen aber auch nur ein oder zwei, welche dann an den Polen lagen.

Die in Haufen liegenden Granula wurden zwar auch von einigen Nachuntersuchern, z. B. S c h u l z¹⁾ u. a., beobachtet, jedoch betonen mehrere Autoren, wie z. B. S c h o t t m ü l l e r²⁾, L i e b e r m e i s t e r³⁾, daß dieselben bei Verwendung von Material, welches auch noch andere grampositive Bakterien enthält, wie Sputum, Fäzes usw., sich nicht mit Sicherheit von Niederschlägen und Kokken unterscheiden lassen.

Die Spezifität der Granula wird von manchen Untersuchern, z. B. L i e b e r m e i s t e r³⁾, D o l d⁴⁾, K r y l o w⁵⁾ u. a., insofern

1) Deutsche Med. Wochenschr. 1909 S. 1569.

2) Münchener Med. Wochenschr. 1908 S. 2564.

3) Deutsche Med. Wochenschr. 1909 S. 1224.

4) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1911, Bd. 36 S. 433.

5) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1914, Bd. 70 S. 135.

eingeschränkt, als auch andere säurefeste Stäbchen bei Anwendung der Gramschen Methode aus derartigen Granularen bestehen. Dadurch dürfte jedoch die Spezifität der granulären Formen nicht geringer sein als die der säurefesten.

Die zweite Frage wird von den Autoren verschieden beantwortet. Wirths¹⁾, Weiß²⁾, Wolff³⁾ Leschke⁴⁾ u. a. konnten in der Tat in tuberkulösen Drüsen, in kalten Abszessen u. dgl., die granuläre Form nachweisen, während sie nach der Ziehlschen Methode keine Bazillen fanden. Schulz⁵⁾ beobachtete bei der Untersuchung tuberkulöser Sputa, welche sich ja bekanntlich auch bei vorgeschrittener Tuberkulose von Zeit zu Zeit frei von Tuberkelbazillen erweisen, in den tuberkelbazillenfremden Intervallen nur die granuläre Form; dieselbe wurde meist nach einiger Zeit von der säurefesten abgelöst. Auch Caan⁶⁾, Krylow⁷⁾, Telemann⁸⁾ u. a. fanden die granuläre, grampositive Form bei Abwesenheit säurefester Stäbchen.

Dagegen konnten Berger⁹⁾, Eisenberg¹⁰⁾, Rosenblatt¹¹⁾, Dold¹²⁾, Bittrolff und Momose¹³⁾ u. a. bei vergleichenden Untersuchungen die granuläre grampositive Form nur da beobachten, wo sich auch säurefeste Stäbchen fanden; eine nur nach Gram, nicht nach Ziehl darstellbare Form des tuberkulösen Virus wurde von ihnen vermißt.

Da demnach die Ansichten über die diagnostische Bedeutung der Muehschen Granula durchaus noch keine Übereinstimmung aufweisen, dürfte das Resultat von mehreren hundert im hiesigen

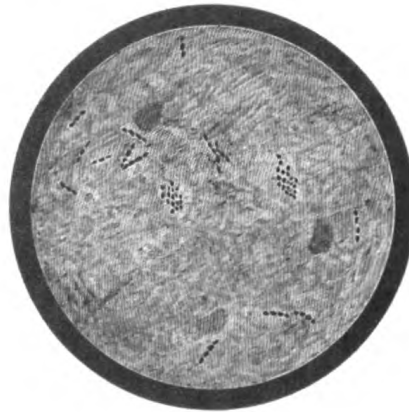
- 1) Münchener Med. Wochenschr. 1908 S. 1687.
- 2) Münchener Med. Wochenschr. 1909 S. 443.
- 3) Münchener Med. Wochenschr. 1909 S. 2312.
- 4) Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 59. S. 366.
- 5) Deutsche Med. Wochenschrift 1909 S. 1569.
- 6) Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 49 S. 637.
- 7) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 1911, Bd. 70 S. 135.
- 8) Deutsche Med. Wochenschr. 1910 S. 891.
- 9) Zentralbl. f. Bakteriologie. 1910, Bd. 53 S. 174.
- 10) Berl. Klin. Wochenschr. 1910 S. 338.
- 11) Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. 58 S. 173.
- 12) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 36 S. 433.
- 13) Deutsche Med. Wochenschr. 1912 S. 16.

Untersuchungsamte angestellten Untersuchungen interessieren, bei denen die Z i e h l'sche Methode mit der von M u c h angegebenen Modifikation der G r a m'schen Färbung verglichen wurde.

Es wurden 300 Sputa und 10 Eiterproben vergleichend untersucht.

Das hierbei geübte Verfahren war folgendes:

Von dem Untersuchungsmaterial wurden zunächst Ausstrichpräparate angefertigt, indem verdächtige Partikel, insbesondere die sog. »Linsen«, zwischen zwei Objektträgern zerquetscht wurden; dadurch erhielten beide Objektträger annähernd das gleiche



Muchsche Granula.

Material. Der Rest desselben wurde nach dem von B e r n h a r d t¹⁾ modifizierten Antiformin-Ligroin-Verfahren in 50 bis 60 ccm fassenden Schüttelzylindern mit der fünffachen Menge 20 proz. Antiformins übergossen und bis zur Homogenisierung bei Brutttemperatur gehalten. Das homogenisierte Sputum wurde dann mit 0,5 bis 1,0 ccm Ligroin durchgeschüttelt und auf 10 Minuten in ein Wasserbad von 60 bis 65° gebracht. Von der Grenzschicht zwischen Ligroin- und Sputumlösung wurden je mehrere Ösen auf zwei vorher erhitzte Objektträger gegeben. Sowohl von den direkten Ausstrichen wie den Antiformin-Ligroinpräparaten wurde je ein Objektträger nach Z i e h l - N e e l s e n und nach M u c h gefärbt. Bei der Färbung nach Z i e h l - N e e l s e n wurden die

1) Deutsche Med. Wochenschr. 1909 S. 1428.

Präparate mit der Karbolfuchsinlösung (10 cem konzentrierter alkohol. Fuchsinlösung auf 100 cem 2 proz. Karbolwassers) übergossen und zwei Minuten bis zur Dampfentwicklung erhitzt, dann in Salzsäurealkohol (1 cem Salzsäure auf 100 cem 70 proz. Alkohols) so lange entfärbt, bis das Präparat eine blaßgraue Beschaffenheit hatte, und endlich mit Löfflerscher Methylenblaulösung einige Sekunden gegengefärbt.

Zur Gramfärbung wurde die von Much angegebene Methode II angewendet:

1. Zweiminutenlanges Färben über der Flamme mit folgender Lösung: 10 cem konzentrierte alkohol. Methylviolett B-Lösung auf 100 cem 2 proz. Karbolwassers;
2. 5 Minuten Lugolsche Lösung;
3. Abspülen in Wasser;
4. 1 Minute 5 proz. Salpetersäure;
5. 10 Sekunden 3 proz. Salzsäure;
6. Entfärben in Azetonalkohol (Azeton und Alkohol absolutus zu gleichen Teilen), bis die Präparate eine blaßgraue Farbe hatten;
7. Gegenfärben mit verdünnter Karbolfuchsinlösung.

Die Karbolgientianaviolettlösung wurde in der Regel alle 8 bis 14 Tage erneuert. Da von einigen Autoren Wert auf eine jedesmal frisch bereitete Lösung gelegt wird, wurde zum Vergleich in 50 Fällen mit stets frisch bereiteter Farblösung 24 Stunden lang bei 37° gefärbt; dann wurden die Präparate wie unter Nr. 2 bis 7 angegeben behandelt. Ein Vorteil dieser letzteren Methode gegenüber der kurzfristigen Färbung mit 8 bis 14 Tage alter Lösung wurde nicht beobachtet.

In den 10 Eiterproben fanden sich weder säurefeste Stäbchen noch die nachher beschriebene granuläre grampositive Form des Tuberkelbazillus.

Das Resultat der 300 Sputumuntersuchungen war, daß in 53 Fällen im direkten Ausstrich und in 24 weiteren Fällen vermittelst des Antiformin-Ligroinverfahrens säurefeste, nach Ziehl darstellbare Stäbchen nachgewiesen werden konnten.

Was nun die nach Much gefärbten Präparate anlangt, so konnte mit ganz vereinzeltten Ausnahmen in

allen Fällen, in denen sich säurefeste Stäbchen fanden, auch die granuläre Form zur Darstellung gebracht werden. Dieselbe präsentierte sich in der Regel als grampositive Körnchen, welche in Stäbchenform reihenweise angeordnet waren, die Grundsubstanz der Bazillen war von hellgrauer Beschaffenheit und oft nur andeutungsweise zu sehen. Die Anzahl der Körnchen schwankte zwischen 1 und 5. Falls es sich nur um 1 oder 2 Körnchen handelte, lagen dieselben an den Polen der Stäbchen. Neben den reihenweise angeordneten Körnchen fanden sich auch zuweilen in Haufen liegende Granula; man hatte jedoch den Eindruck, daß diese Häufchen dadurch zustande kamen, daß mehrere Körnchenreihen parallel oder gekreuzt dicht beieinander lagen. Die von Much u. a. beobachteten stäubchenförmig über das Gesichtsfeld verbreiteten feinsten Granula konnten nicht nachgewiesen oder jedenfalls nicht mit Sicherheit von Farbstoffniederschlägen unterschieden werden.

In ganz vereinzelt Fällen, in denen die säurefesten Stäbchen sehr spärlich waren und sich erst nach Durchmusterung eines großen Teiles des Präparates fanden, wurde die granuläre grampositive Form vermißt. Es ist jedoch sehr wohl möglich, daß dieselbe in diesen Fällen zwar vorhanden war, aber dem Nachweis entging, sei es, daß beide Präparate nicht genau dieselbe Bazillenmenge enthielten, sei es, daß die Granula bei der Durchsicht der Präparate übersehen wurden.

Andererseits fanden sich grampositive, in Reihen angeordnete Granula in 3 Fällen, in denen säurefeste Stäbchen weder im direkten Präparat noch bei Anwendung des Antiformin-Ligroinverfahrens nachgewiesen werden konnten.

In dem ersten Falle handelte es sich um einen 40 jährigen, vor etwa einem Jahre erkrankten Mann, der kurze Zeit nach dem Funde der Granula an Hämoptoe erkrankte; bei einer zweiten Sputumuntersuchung, die etwa 5 Wochen nach der ersten stattfand, konnten auch säurefeste Stäbchen nachgewiesen werden.

Der z w e i t e Fall betraf eine Krankenschwester, welche seit 4 Jahren im Anschluß an eine Influenza beständig hüstelte, ohne jedoch in ihrem Allgemeinbefinden erheblich beeinträchtigt gewesen zu sein; insbesondere hatte sie nie gefiebert, auch nie Hämoptoe gehabt. Wiederholte seitens des Krankenhausarztes vorgenommene Sputumuntersuchungen fielen negativ aus; auch probatorische Tuberkulininjektionen von 0,2 und 1,0 mg riefen keine Reaktion hervor. Zur Zeit des Fundes der grampositiven Granula bestanden nach Mitteilung des Krankenhausarztes keine deutlichen Erscheinungen klinischer Tuberkulose. Eine zweite, mehrere Monate nach dem Funde der grampositiven Granula vorgenommene Sputumuntersuchung ergab zahlreiche säurefeste Stäbchen. Inzwischen hatte sich auch das klinische Krankheitsbild geändert. Das Körpergewicht war um 17 Pfund gesunken. Auf beiden Lungenspitzen fanden sich abgeschwächter Perkussionschall und kleinblasige bis mittelblasige Rasselgeräusche. Unterhalb der linken Clavicula bestanden feuchte, großblasige, klingende Rasselgeräusche und deutliches Bronchialatmen.

Im d r i t t e n Falle stammte das Sputum, welches beim Fehlen säurefester Stäbchen die granuläre Form des Tuberkelbazillus aufwies, von einem Gefangenen, der klinisch deutliche, auf Tuberkulose hinweisende Erscheinungen bot. 8 Tage nach der ersten Sputumuntersuchung konnten auch säurefeste Stäbchen im Auswurf festgestellt werden.

Offenbar ist diesen 3 Fällen, in denen durch den Nachweis der granulären Form des tuberkulösen Virus der klinische Befund gestützt wurde, eine gewisse Bedeutung nicht abzusprechen; insbesondere gelang es in dem zweiten Falle, durch den Befund der Granula gewissermaßen eine F r ü h d i a g n o s e zu stellen.

Man könnte jedoch diesen 3 Befunden entgegenhalten, daß aus demselben Grunde, der vorhin für das zeitweilige Fehlen der granulären Form bei gleichzeitigem spärlichem Vorhandensein der säurefesten geltend gemacht wurden, auch in diesen 3 Fällen die säurefeste Form sich dem Nachweis entzog.

Es sind aber weiterhin folgende Befunde beachtenswert: in 6 Fällen erwies sich das direkte Präparat frei von säurefesten

Stäbchen, und nur durch das Antiformin-Ligroinverfahren gelang der Nachweis derselben; dagegen fanden sich bei Anwendung der Muchschen Färbung auch im direkten Ausstrich mehr oder weniger zahlreiche, meist reihenförmig angeordnete grampositive Granula. Außerdem über wog in zwei weiteren, auch im direkten Ausstrich säurefeste Stäbchen enthaltenden Fällen die granuläre Form die säurefeste bedeutend.

Diese Befunde bestätigen also die Befunde anderer Autoren, nach denen das Gramsche Verfahren mehr tuberkulöses Virus zur Darstellung bringen kann als das Ziehlsche, daß es also offenbar gewisse Formen dieses Virus gibt, welche sich nicht nach Ziehl, wohl aber nach Gram darstellen lassen.

Für die Versuche, diese Erscheinung zu erklären, ist die Tatsache maßgebend, daß die Tuberkelbazillen sich bei der Gramschen Färbung in der Regel als ein aus mehreren Granula bestehendes Stäbchen, bei der Ziehlschen Färbung dagegen meist als solides, homogen erscheinendes Stäbchen präsentieren.

Daß es sich hierbei nicht um verschiedene Bazillen, sondern um Erscheinungen, welche an demselben Bakterienindividuum beobachtet sind, handelt, wurde durch verschiedene Versuche bestätigt. So konnten Berger¹⁾, Hatanö²⁾, Weiß³⁾, Krylow⁴⁾ u. a. dadurch, daß sie dasselbe Präparat zuerst nach Gram und dann nach Ziehl färbten, oder mit einer Mischung von Karbolfuchsin und Karbolgentianaviolett und nachheriger Jodierung behandelten, rote Stäbchen, die in ihrem Inneren violette Granula enthielten, zur Darstellung bringen. Auch durch Abzeichnen bestimmter Stellen des Präparates konnte man nachweisen, daß dieselben Bazillen, welche bei der Ziehlschen Färbung als homogene Stäbchen erscheinen, bei der Gramschen Färbung sich als Granulareihen präsentieren.

1) a. a. O.

2) Berl. Klin. Wochenschr. 1909 S. 1694.

3) Berl. Klin. Wochenschr. 1909 S. 1797.

4) a. a. O.

Offenbar besteht der Tuberkelbazillus, wie Much, Wirths u. a. hervorheben, aus zwei chemisch verschiedenen Substanzen, einer säurefesten und einer nur nach Gram darstellbaren. Über die Natur derselben besteht jedoch keine Einigkeit. Nach der am meisten verbreiteten Ansicht beruht die Säurefestigkeit auf dem Vorhandensein von Fettsäuren, Fetten, Wachsen u. dgl.¹⁾, welche den Bakterienleib als Hülle umgeben oder die ganze Substanz desselben durchtränken sollen; bei der Ziehlschen Färbung käme hauptsächlich diese Hülle zur Darstellung, wodurch das Stäbchen homogen erscheine. Man hat diese Substanzen zum Teil durch Behandeln der Bazillen mit verschiedenen Chemikalien extrahiert und an dem Extrakt ein ähnliches färberisches Verhalten beobachtet wie an den Tuberkelbazillen. Versuche, die die Säurefestigkeit bedingende Substanz von der granulären grampositiven durch chemische Experimente zu trennen (Deyke²⁾, Aronson³⁾, Krylow⁴⁾, haben ein positives Resultat nicht gehabt. Trotzdem ist es nicht unmöglich, daß unter gewissen Verhältnissen eine Trennung dieser Substanzen zustandekommt, daß insbesondere die säurefeste verloren geht. Nach Much, Wirths u. a. kommt der Verlust bzw. die Schädigung der säurefesten Substanz dadurch zustande, daß die Tuberkelbazillen im käsigen Gewebe von der Ernährung abgeschnitten oder Angriffen der im tuberkulösen Eiter enthaltenen Immunstoffe ausgesetzt sind. Für die Möglichkeit, daß die säurefeste Substanz unter Umständen fehlen kann, sprechen auch die von verschiedenen Autoren an jungen Tuberkelbazillen gemachten Beobachtungen. So fanden Aronson⁵⁾ und Krylow⁶⁾, daß in jungen Kulturen die grampositive Substanz eher auftritt als die säurefeste.

1) Vgl. die ausführliche Literaturangabe bei Berger a. a. O.

2) Münchener Med. Wochenschr. 1910 S. 636.

3) Berl. Klin. Wochenschr. 1910 S. 1617.

4) a. a. O.

5) a. a. O.

6) a. a. O.

Auch in den vorliegenden Untersuchungen wird man daher das zuweilen beobachtete Überwiegen bzw. zahlreichere Vorkommen der granulären grampositiven Form damit erklären, daß die säurefeste Substanz nicht in allen Fällen zur Darstellung gebracht werden konnte, sei es, daß junge Bazillen, welche mit dieser Substanz nicht imprägniert waren, ausgeschieden wurden, sei es, daß dieselbe durch irgendwelche schädliche Einflüsse (mangelnde Ernährung, Immungstoffe des Organismus) verloren ging bzw. ihre Säurefestigkeit einbüßte.

Much, Deyke, Weiß, Leschke u. a. sehen mit Recht die Hauptbedeutung der Muchschen Beobachtung in der Tatsache, daß die granuläre Form in Fällen nachgewiesen werden kann, in denen die Ziehlsche Färbemethode versagt; daß die Gramsche Methode oft mehr Virus zur Darstellung bringe als die Ziehlsche, sei eine sekundäre Tatsache, die mit dem eigentlichen Problem der Muchschen Granula gar nichts zu tun habe.

In dem hier untersuchten Material wurde die granuläre Form allein ohne gleichzeitiges Vorkommen säurefester Stäbchen nur dreimal gefunden. Trotzdem dürfte dem Muchschen Verfahren auch in Fällen, in denen mühelos die grampositive Form nachgewiesen wird, in denen aber der Nachweis spärlicher säurefester Stäbchen nur durch subtile Untersuchungen ermöglicht werden kann, ein diagnostischer Wert nicht abzusprechen sein. Insbesondere wird man in Fällen, in denen nur ein oder das andere verdächtige, aber wenig charakteristische säurefeste Stäbchen zu finden ist, welches man nicht ohne Bedenken für die schwerwiegende Diagnose der Tuberkulose verwenden möchte, die Muchsche Färbung als diagnostisches Hilfsmittel heranziehen.

Allerdings muß verlangt werden, daß es möglich ist, die Granula von anderen grampositiven Bakterien und Farbstoffniederschlägen zu unterscheiden. Liebermeister, Schottmüller u. a. schätzen wegen der Unmöglichkeit, derartige Verwechslungen bei Untersuchung von Sputum, Fäzes u. dgl. mit Sicherheit zu vermeiden, den diagnostischen Wert der Granula nur gering ein.

Nach den bei vorstehenden Untersuchungen gemachten Erfahrungen sind derartige Verwechslungen bei einiger Übung zu vermeiden. Die in Reihen angeordneten Körnchen, welche oft noch die Lagerung in bzw. auf einem schwach gefärbten Stäbchen erkennen lassen, haben ein derartig charakteristisches Aussehen, daß sie von Kokken und Niederschlägen durchaus leicht zu unterscheiden sind. Weniger leicht ist diese Unterscheidung bei den einzelnen oder in Haufen liegenden Granula, weswegen in den vorliegenden Untersuchungen als granuläre Form nur die in Reihen angeordneten Granula angesprochen wurden. Um die objektive Nachprüfung vorstehender Befunde zu ermöglichen, wurden in der auf S. 247 befindlichen Abbildung derartige Gebilde zur Darstellung gebracht.

Schlußfolgerung: Es empfiehlt sich, tuberkulöses Material nicht nur nach Ziehl, sondern auch nach Gram (Mueh) zu färben, da die grampositive granuläre Form oft reichlicher vorhanden ist als die säurefeste und infolgedessen die Diagnose erleichtert in Fällen, in denen der Nachweis der oft nur spärlich vorhandenen säurefesten Form mit Schwierigkeiten verknüpft ist oder ganz mißlingt.

Herrn Kreisarzt Dr. Hilgermann gestatte ich mir für die bei vorstehenden Untersuchungen gegebene Anregung und Unterstützung meinen verbindlichsten Dank abzustatten.

Zur Frage der Bedeutung des *Bacterium coli* in Trinkwässern.

Von
Prof. Dr. **Gustav Kabrhel.**

(Aus dem Hygienischen Institut der böhmischen Universität in Prag.

(Bei der Redaktion eingelaufen am 7. Mai 1912.)

Die für die Beurteilung von Trinkwässern nötige Grundlage bieten, wie bekannt, die auf Grund von chemischer, physikalischer und bakteriologischer Untersuchung gewonnenen Kriterien, welche ferner noch durch den lokalen Befund ergänzt werden.

Trotz dieser reichlichen Untersuchungsmethodik bleibt noch immer die hygienische Wasserbeurteilung in manchen Fällen eine sehr schwierige Aufgabe. Die nicht selten bei der Trinkwasserbeurteilung auftauchenden Schwierigkeiten sucht man durch Vervollkommnung der Untersuchungsmethoden zu beseitigen.

In bakteriologischer Hinsicht ist namentlich der Nachweis des *Bact. coli*, welcher in neuerer Zeit in bezug auf die Frage der Trinkwasseruntersuchung und -beurteilung vielfach den Gegenstand der wissenschaftlichen Arbeiten bildet.

In der vorliegenden Arbeit soll nun die Frage besprochen werden, inwiefern der Nachweis des *Bact. coli* für die Zwecke der hygienischen Wasserbeurteilung ausgenutzt werden kann.

Was die Methodik betreffend den Nachweis des *Bact. coli* betrifft, so soll nur das in Betracht gezogen werden, was eben für

die Diskussion der oben präzisierten Frage unumgänglich nötig erscheint.

Wenden wir unsere Aufmerksamkeit den Gefahren zu, welche für den menschlichen Organismus aus dem Genuß des Trinkwassers entspringen, so sehen wir, daß die betreffenden Infektionsquellen fast ausschließlich in den Sekreten und Exkreten des menschlichen Körpers, namentlich aber in den Exkrementen zu suchen sind.

In Anbetracht dieses Umstandes ist der weitere Schluß berechtigt, daß ein Wasser, welches durch Stoffe verunreinigt ist, deren Ursprung in den menschlichen Exkrementen zu suchen ist, verdächtig erscheint, daß mit der diesbezüglichen Verunreinigung gleichzeitig eine Beimischung von Infektionsstoffen stattgefunden haben könnte.

Da das *Bact. coli* in den menschlichen Exkrementen reichlich vertreten ist, so war der Schluß nahe, diesen Mikroorganismus als Indikator für die fäkale Verunreinigung zu benutzen.

Gegen diese Proposition hat *K r u s e*¹⁾ eingewendet, daß das *Bact. coli* für die Fäzes des Menschen durchaus nicht genügend charakteristisch ist, daß die Mikroorganismen dieser Art überall, in der Luft, im Boden und im Wasser verschiedenster Provenienz, verbreitet sind.

*W e i ß e n f e l d*²⁾ bringt für die Richtigkeit der Anschauung *K r u s e*s analytische Beweise, zu welchem Zwecke er eine größere Anzahl guter und schlechter Brunnen untersucht hat.

Diese Untersuchung hat *W e i ß e n f e l d* in der Art unternommen, daß er 1 ccm Wasser in eine Eprouvete, welche Bouillon enthielt, abgemessen hat und dann einige Tropfen der Pariettischen Lösung (96 ccm einer 5 proz. Karbolsäurelösung und 4 ccm konzentrierter Salzsäure) zugesetzt hat. Die Eprouvetten wurden dann auf 24 Stunden in einem Thermostaten bei 37° C belassen. Ist ein Wachstum eingetreten, wurden Gelatineplatten verfertigt; die dem *Bact. coli* ähnlichen Kolonien wurden abgeimpft und weiter geprüft.

1) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 17.

2) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 35 S. 78.

Führte diese Untersuchung zu einem negativen Resultat, dann nahm der Autor ein größeres Wasserquantum zur Untersuchung ($\frac{1}{2}$ bis 1 l), fügte $\frac{1}{2}$ bis 1% Pepton und Kochsalz hinzu und setzte den Kolben wieder auf 24 Stunden in den Thermostaten (37° C). Hat nun ein Wachstum stattgefunden, war der weitere Vorgang derselbe wie im ersten Falle.

Auf Grund der angeführten Experimente kam *Weißenfeld* zu dem Endresultate, daß, wenn eine genügende Wassermenge zur bakteriologischen Untersuchung verwendet wurde, das *Bact. coli* in allen untersuchten Brunnen nachgewiesen werden konnte.

Weißenfeld zitiert ferner in seiner Arbeit französische Autoren, namentlich *Miquel*, welcher bezüglich der ubiquitären Verbreitung des *Bact. coli* zu ganz ähnlichen Resultaten, wie er selbst, gekommen ist.

In Bezug auf diese Resultate ist vorerst zu bemerken, daß sich seit jener Zeit, während welcher die *Weißenfeld*schen Untersuchungen durchgeführt wurden, die Methodik, welche zur Unterscheidung des typischen *Bact. coli* von anderen ähnlichen Arten dient, bedeutend vervollkommen hat.

Indem *Weißenfeld* sich noch begnügte, festzustellen, ob der herangezüchtete Mikrobe auf gewöhnlicher Gelatine weinblattähnliche Kolonien bildete, ob er größere oder kleinere oder gar keine Beweglichkeit zeigte, ob er sich gegen Gramsche Färbung negativ verhielt, ob er in Traubenzuckernährböden Gasbildung bewirkte, wird jetzt neben diesen von *Weißenfeld* benutzten Merkmalen namentlich noch die Gerinnung der Milch, die Entfärbung des Neutralrotagars, die Rotfärbung der Lackmusmolke (nach *Petrushky*), ferner die Rotfärbung der Barsiekowschen Nährlösungen und Wachstum der betreffenden Mikroben auf *Drygalski*- oder *Endoagar* zur differentiellen Diagnose herangezogen.

Durch die Einführung der angeführten diagnostischen Kriterien konnte das typische *Bact. coli* von den übrigen ihm nahe-

stehenden Mikroben abgetrennt werden. Die letzteren werden jetzt als Parakolibazillen¹⁾ bezeichnet.

Der Umstand aber, daß die von We i ß e n f e l d angewendeten Kriterien nach dem jetzigen Stande unseres Wissens zur Abgrenzung des typischen *Bact. coli* nicht mehr ausreichen, läßt den Einwand auftauchen, ob nicht ein Teil seiner Befunde mit der bisher wenig durchforschten Parakoligruppe im kausalen Zusammenhange steht.

Daß dieser Einwand berechtigt ist, beweisen jene Arbeiten späterer Autoren, in welchen zur Abgrenzung des *Bact. coli* von der Gruppe der demselben nahestehenden Mikroorganismen die neueren vervollkommneten Methoden angewendet wurden.

In diesen Arbeiten sind Resultate zu verzeichnen, welche von denjenigen, zu welchen We i ß e n f e l d gelangt ist, wesentlich abweichen.

In dieser Richtung erscheint es nötig, vorerst auf die in dem Praußnitzschen Institute von K a i s e r²⁾ durchgeführte Arbeit hinzuweisen.

Dieser Autor hat zur Differenzierung des *Bact. coli* von anderen demselben verwandten Mikroben außer den von We i ß e n f e l d benutzten Merkmalen noch die Wirkung auf Neutralrotagar, auf Milch, auf Petruskysmolke und die Bildung von Indol in Bouillonkultur in Anwendung gebracht.

Zur Anreicherung (bei 37 bis 40°) verwendete K a i s e r den Heuaufguß, dessen bestimmtes Quantum er zu 1 l Wasser, welches untersucht werden sollte, zugesetzt hat. (We i ß e n f e l d nahm zur Anreicherung in der Regel ½ bis 1 l Wasser.)

1) Aus dem, was oben angeführt wurde, erhellt, daß bei der Abgrenzung des *Bact. coli* sich ein ähnlicher Prozeß abgespielt hat, welcher in bezug auf den *Bac. Typhi* Platz gegriffen hat. Auch in dem letzteren Falle hat die Entwicklung der diagnostischen, namentlich aber der biochemischen und serologischen Kriterien zu der Erkenntnis geführt, daß bei der Erkrankung, welche bis zu dieser Zeit in klinischer Richtung als ätiologisch einheitlich angesehen wurde, Mikroorganismen vorkommen, welche dem typischen *Bac. Typhi* zwar nahestehen, immerhin aber in bestimmten Richtungen von ihm abweichen. Sie wurden als *Bac. paratyphi A* und *Bac. paratyphi B* bezeichnet.

2) Archiv f. Hygiene Bd. 52.

Die bei Verwendung von Heuaufguß erzielte Anreicherung des *Bact. coli*, wobei die Entwicklung der verflüssigenden Mikroben fast ganz aufgehoben wurde, zeigte sich — wie sich K a i s e r durch besondere Kontrollversuche überzeugt hat — empfindlicher als die zum selben Zweck von W e i ß e n f e l d benutzte Methode (1% Peptonlösung mit Kochsalzzusatz).

Was die Resultate der von K a i s e r unternommenen Untersuchungen anbelangt, soll das Nachstehende angeführt werden:

Von einer großen Anzahl der Brunnenwässer, welche untersucht wurden, fand K a i s e r typisches *Bact. coli* in 22%. In 30% fehlte das eine oder das andere für das *Bact. coli* charakteristische Kriterium (Gruppe Parakoli). In 48% der untersuchten Wässer fand K a i s e r weder das typische *Bact. coli* noch einen Angehörigen der Parakoligruppe.

Ähnliche Resultate erhielt auch J. P e t r u s c h k y ¹⁾ bei seinen in Gemeinschaft mit H. P u s c h durchgeführten Untersuchungen. Die Anreicherung erfolgte bei diesen Versuchen derart, daß das zu untersuchende Wasser mit gleicher Menge Bouillon gemischt und danach auf 24 Stunden in den Thermostaten eingesetzt wurde. Das durch Anreicherung gewonnene Material wurde dann auf Drygalskiagar übertragen.

Die Diagnose lautete auf *Bact. coli*, wenn der betreffende Mikroorganismus auf Drygalskiagar das charakteristische Wachstum (rote Kolonien mit einem roten Hofe) zeigte, nach G r a m sich entfärbte, Traubenzucker und Milchzucker bei gleichzeitiger Gas- und Säureproduktion vergäerte und die Molke (nach P e t r u s c h k y) stark rot färbte.

Die Autoren gelangten bei ihren bakteriologischen Untersuchungen zu dem Resultate, daß in zahlreichen Fällen, und zwar in solchen, wo das benutzte Wasserquantum $\frac{1}{4}$ bis $\frac{3}{4}$ l betrug, *Bact. coli* nicht nachgewiesen werden konnte. Negative Resultate wurden namentlich bei dem artesischen Brunnen in Marienwerder und einigen Brunnen in der Nähe von Danzig beobachtet.

Aus dem Angeführten erhellt, daß mit der fortschreitenden Abgrenzung des *Bact. coli* von den ihm nahestehenden Organismen,

1) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 43.

selbst wenn 1 l Wasser in Arbeit genommen wurde und wenn die empfindlichste Anreicherungs-methode angewendet wurde, ein großer Prozentsatz der Brunnenwässer in bezug auf das Bact. coli ein negatives Resultat ergab.

Gegen diese mit negativem Resultate endigenden Untersuchungen könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, daß man auch in diesen Fällen zum positiven Nachweise des Bact. coli gelangen könnte, wenn man noch ein größeres Quantum als 1 l zur Untersuchung nehmen und außerdem genügend empfindliche Untersuchungsmethoden zur Anreicherung wählen würde.

Dieser Einwand erscheint gewiß gerechtfertigt. Denn ziehen wir in Betracht, daß das Bact. coli im Wege der menschlichen Fäkalien ununterbrochen und gewiß in reichlichen Quantitäten ausgeschieden wird, und erwägen wir ferner, daß dasselbe für das saprophytische Leben und namentlich für die Konkurrenz mit anderen Mikroorganismen mit sehr mächtigen Eigenschaften ausgestattet ist, kann man sich der Ansicht nicht erwehren, daß dasselbe einerseits durch direkten Kontakt mit den betreffenden Abfallstoffen, andererseits indirekt an die verschiedenartigsten Orte transportiert werden kann.

Wenn aber F r o m m e¹⁾ in seiner Arbeit sagt: »Das Bact. coli ist nicht ubiquitär«, so muß man sich vergegenwärtigen, daß selbst durch eine noch so breit angelegte bakteriologische Untersuchung ein präziser Beweis der angeführten Behauptung nicht erbracht werden kann — abgesehen davon, daß wir nicht über eine so empfindliche Methode verfügen, daß wir die Gegenwart des Bact. coli unter allen Umständen und in jedem Grade der Verdünnung einwandfrei nachweisen könnten²⁾.

Es ist einleuchtend, daß die negativen Befunde jener Autoren, welche sich mit dem Nachweise von Bact. coli in den verschiedensten Objekten befaßt haben, und welche zu dem Schlusse gelangten,

1) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 65 S. 251.

2) Wir werden später hören, daß erst dann, wenn die Anzahl der Mikroorganismen z. B. im Wasser eine gewisse Grenze erreicht, wir bei Anwendung der üblichen Methoden auf seinen Nachweis rechnen können.

daß das Bact. coli nicht ubiquitär verbreitet ist, nicht im absoluten Sinne ausgenutzt werden können.

Denn alle solche Schlußfolgerungen fußen auf Untersuchungen, bei welchen entweder eine bestimmte Menge des Untersuchungsmaterials verwendet werden mußte oder ein bestimmtes Flächenmaß den Ausgangspunkt zur diesbezüglichen Untersuchung bildete.

Übrigens ist zu betonen, daß der Umstand, ob das Bact. coli in der Außenwelt ubiquitär verbreitet ist oder nicht, in bezug auf die Verwendung des Nachweises desselben zur hygienischen Begutachtung nicht ausschlaggebend und eigentlich ganz irrelevant ist.

Ich werde zeigen können, daß nicht der Umstand, ob das Bact. coli ubiquitär ist oder nicht, sondern nur das Verhältnis desselben zum Filtrationseffekte die erforderlichen Gesichtspunkte, betreffend die Verwendung des Nachweises von Bact. coli, für die Zwecke der Wasserbegutachtung bieten kann, welcher Umstand in den Arbeiten, welche sich mit den diesbezüglichen Fragen befaßt haben, bisher ganz unberücksichtigt geblieben ist.

Um zu den erforderlichen Gesichtspunkten gelangen zu können, wenden wir vorerst unsere Aufmerksamkeit der Sandfiltration zu.

Wie bekannt ist der Filtrationseffekt bei der Sandfiltration kein absoluter¹⁾, so daß ein Teil der mit dem Rohwasser auf die Sandfilter gelangenden Mikroben durch die Sandfilter durchschlüpft. Die vom Autor²⁾ zur weiteren Klarlegung dieser Frage durchgeführten Versuche liefern den Beweis, daß der im Stadium der vollkommenen Wirksamkeit und bei einer Geschwindigkeit von 2,4 m im Tage erreichbare wirkliche Filtrationseffekt dem Werte 7000:1 gleich ist (d. h. von 7000 Mikroben des auf das Filter gelangten Wassers geht bloß einer in das filtrierte Wasser über).

Daraus folgt, daß, wenn das zur Sandfiltration verwendete Rohwasser z. B. während einer Typhus- oder Choleraepidemie

1) Frankel-Piefke: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 8; Kabrhel: Archiv f. Hygiene Bd. 22.

2) l. c.

Typhus- oder Cholerakeime führen würde, ein Teil derselben, und zwar ca. $\frac{1}{7000}$, auch bei einem durchaus vollkommenen Betriebe in das filtrierte Wasser gelangen müßte.

Obwohl aber die Sandfilter keinen absoluten Filtrationseffekt aufweisen, so besitzen dieselben doch die Fähigkeit, die Bevölkerung vor den durch das Trinkwasser verbreiteten, namentlich Typhus- und Choleraepidemien zu schützen.

Einer der kräftigsten Beweise des angeführten Schutzes ist das Verhalten der Choleraepidemie in Hamburg und Altona im Jahre 1892. Es wurde der Nachweis erbracht, daß diese furchtbare Epidemie, bei welcher binnen kurzer Zeit beinahe 9000 Leute gestorben sind, durch die mit Elbewasser gespeiste Wasserleitung verursacht wurde.

Altona, welches sein Leitungswasser gleichfalls aus der Elbe, und zwar an einem ungünstigeren Orte als Hamburg (unterhalb der Ausmündung der Hamburger Kanäle), entnommen hat, blieb von der Cholera verschont. Der Grund dieser auffallenden Erscheinung ist in dem Umstande zu erblicken, daß Altona das zur Wasserversorgung entnommene Elbewasser sorgfältig mittels Sandfiltration gereinigt hat.

Was die Erklärung der scheinbar sich widersprechenden Tatsachen, betreffend einerseits die Durchlässigkeit der Sandfilter für eine bestimmte Quote von pathogenen Organismen, andererseits den Schutz, welche die Sandfiltration gegen die diesbezüglichen Epidemien bietet, betrifft, so muß man sich vergegenwärtigen, daß jede Infektion durch pathogene Mikroben neben anderen Faktoren auch von der Anzahl der in den Körper eingedrungenen Mikroorganismen abhängig ist. Sobald die Zahl der betreffenden unter bestimmten Verhältnissen in den Körper eingedrungenen pathogenen Mikroben unter eine bestimmte Grenze sinkt, bleibt dann die Infektion aus.

Da die maximale Grenze des guten Filtrationseffektes, wie oben angeführt, dem Werte 7000:1 gleich ist, so folgt daraus, daß, solange die Sandfiltration imstande ist, aus dem Rohwasser die pathogenen Organismen im Verhältnisse 7000:1 zu entfernen,

18*

jene Quote von pathogenen Mikroben, welche das Filter passiert, dem Menschen schon nicht gefährlich ist.

Daraus erhellt, daß bei Anwesenheit von Cholera- oder Typhuskeimen im Rohwasser mit der Möglichkeit zu rechnen ist, daß bei Anwendung von genügend empfindlichen Methoden und eines entsprechenden Wasserquantums auch bei einer präzis fungierenden Sandfiltration der Nachweis von Typhus- oder Cholerabazillen gelingen könnte.

Was das *Bact. coli* anbelangt, so ist bei Anwendung einer genug empfindlichen Methode und eines entsprechenden Wasserquantums mit dem Nachweise desselben im filtrierten Wasser um so mehr zu rechnen, als Abwässer, welche Fäkalien enthalten, sich den Oberflächenwässern sehr häufig beimischen.

Die eben angeführten Betrachtungen scheinen auf den ersten Blick dafür zu sprechen, daß eigentlich weder der Nachweis des *Bact. coli* noch der Nachweis der Typhus- und Cholerabazillen zu maßgebenden Resultaten in bezug auf die hygienische Beurteilung der durch Sandfiltration gereinigten Trinkwässer führen kann.

Wenn auch diese Schlußfolgerungen unter Verhältnissen, bei welchen man sich nur auf das bloße Auffinden oder Nichtauffinden der betreffenden pathogenen Mikroben beschränken würde, volle Berechtigung hat, so ist gleichzeitig evident, daß der Nachweis der betreffenden Mikroben für die Beurteilung des filtrierten Wassers in dem Falle verwendet werden könnte, wenn man durch die bakteriologische Untersuchung sicherstellen würde, welche Quote der betreffenden pathogenen Mikroben durch das Sandfilter durchgedrungen ist, was, wie oben dargelegt, mit dem wirklichen Filtrationseffekt gleichbedeutend ist.

Nachdem wir an dem Beispiele der Sandfiltration gezeigt haben, auf welche Art das *Bact. coli* für die diesbezügliche Wasserbegutachtung ausgenutzt werden könnte, wenden wir uns nun zu den unterirdischen Wässern.

Auch bei den unterirdischen Wässern (Grund- und Quellwässern) hängt die Anwesenheit der pathogenen Organismen von dem Filtrationseffekte der Bodenschichten ab (abgesehen von

solchen Fällen, bei welchen die betreffenden Mikroorganismen in die Brunnen oder Quellen durch oberirdische Zuflüsse gelangen, falls die technische Anlage der Brunnen fehlerhaft oder die Quelle schlecht gefaßt ist).

Um bei unterirdischen Wässern (Grund- und Quellwässern) die Möglichkeit einer Infektion auszuschließen, wurde auf Antrag H ü p p e s der Grundsatz angenommen, daß nur solche Wässer als Trinkwässer zugelassen werden können, welche aus sterilen, wasserführenden Bodenschichten entstammen. Es wurde demnach für die unterirdischen Wässer die Forderung des absoluten Filtrationseffektes aufgestellt. Der Wert desselben ist also in diesem Falle gleich $\infty : 1$, wogegen bei der Sandfiltration derselben der Wert ca. 7000:1 beträgt.

In Anbetracht der bekannten Arbeiten von C. F r ä n k e l¹⁾ war, zur Zeit als der eben erwähnte Grundsatz in bezug auf die Wasserbeurteilung allseitig angenommen wurde, die Existenz von sterilen wasserführenden Schichten, und zwar in einer nicht beträchtlichen Tiefe unter der Oberfläche, als erwiesen erachtet.

Schon im Jahre 1900²⁾, als ich selbst noch von der Richtigkeit der Lehre, betreffend die Sterilität der wasserführenden Schichten in nicht allzu großer Tiefe unter der Oberfläche fest überzeugt war, habe ich auf Fälle von Wasserversorgungsprojekten hingewiesen, bei welchen man an der Forderung der Sterilität der wasserführenden Bodenschichten nicht festhalten konnte.

Es handelte sich um Wassergebiete von Quellwässern, bei welchen die kontinuierliche, poröse, auf wasserundurchlässiger Ton- oder Felsenunterlage ruhende Filterschicht im ganzen schwach war, so daß dieselbe an vielen Stellen kaum 1 ½ m (eventuell 20 bis 50 cm) Stärke erreichte, wo aber zugleich die Oberfläche von Feld, Wiese oder Wald bedeckt war, welches Terrain (wiewohl es sonst im hygienischen Sinne als rein bezeichnet werden mußte) trotzdem in einzelnen, wenn auch seltenen Zeitpunkten Verunreinigungen durch menschliche und tierische Abfallstoffe ausgesetzt war.

1) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 2.

2) Dr. G. K a b r h e l: Theorie und Praxis der Trinkwasserbeurteilung S. 169.

In bezug auf die allgemein herrschende Forderung, betreffend die Sterilität der wasserführenden Schichten bei den zu Wasserversorgungszwecken in Aussicht genommenen Wassergebieten, habe ich darauf hingewiesen, daß bei Wassergebieten, deren Charakter oben näher präzisiert wurde, das die Quelle versorgende Grundwasser im größten Teile des Wassergebietes oder eventuell in dessen ganzem Bereiche nicht sterilen, keimfreien Bodenschichten entstammen wird, obwohl sonst der Filtrationseffekt solcher Wassergebiete im ganzen noch ein vorzüglicher sein kann. Unter solchen Umständen mußte freilich die Möglichkeit zugelassen werden, daß, wenn auf jene Stellen des Wassergebietes, an welchen die zusammenhängende poröse Filterschicht schwach ist, durch Vermittlung der Abfallstoffe pathogene Mikroorganismen gelangen würden, ein wenn auch minimaler Bruchteil derselben auch in die wasserführende Schicht gelangen könnte.

Würde man an der allgemein akzeptierten Forderung der Sterilität der wasserführenden Schichten festhalten, so müßte man schon a priori alle Wassergebiete, deren Charakter demjenigen, welcher oben näher präzisiert wurde, entsprechen würde, von der Ausnutzung zu Wasserversorgungszwecken ausschließen.

Unter Hinweis auf die Sandfiltration, welche, trotzdem daß ihre Leistungsfähigkeit von dem absoluten Filtrationseffekt weit entfernt ist, sich doch im Kampfe gegen bestimmte Infektionskrankheiten bestens bewährt hat, bin ich schon damals zu der Schlußfolgerung gelangt, daß die aprioristische Abweisung von Grundwässern solcher Wassergebiete, deren wasserführende Schichten nicht steril sind, nicht als richtig und zweckdienlich anerkannt werden kann.

Man muß nämlich im Auge behalten, daß, sollte man an der Forderung der Sterilität wasserführender Bodenschichten festhalten, in vielen Landschaften die Versorgung mit Quell- oder Grundwasser überhaupt undurchführbar wäre, was eine Stagnation in der Erbauung von Wasserleitungen oder einen Druck zugunsten der durch zentrale Sandfiltration oder mittels anderer erprobter Hilfsmittel gereinigten Oberflächenwasser nach sich ziehen müßte, welche Hilfsmittel, obschon eine ausgezeichnete Erfindung, doch

erst dann in Tätigkeit zu treten berechtigt sind, wenn das Anschaffen von Quell- oder Grundwasser unüberwindlichen Hindernissen begegnet.

Ohne auf die in den oben zitierten Arbeiten angeführten Argumente näher einzugehen, will ich mich hier nur auf die Schlußfolgerung beschränken, zu welcher ich gelangt bin, daß man nämlich berechtigt ist, auch ein solches Wassergebiet, dessen wasserführende Bodenschichten der Forderung der Sterilität nicht entsprechen, in dem Falle für Wasserversorgungszwecké auszunutzen, wenn das diesem Wassergebiet entstammende Quellwasser einen derartigen Filtrationseffekt besitzt, der wenigstens dem bei einer richtig beschriebenen Sandfiltration erzielten Filtrationseffekte gleich ist.

Um die weitere erforderliche Grundlage zur Klarlegung der uns interessierenden Hauptfrage zu erhalten, ist es ferner nötig, vorzuschicken, daß ich im Jahre 1908 nachgewiesen habe¹⁾, daß auch die bisher allgemein akzeptierte Anschauung, nach welcher schon in einer nicht beträchtlichen Tiefe unter der Oberfläche sterile Bodenschichten sich befinden sollen, nicht richtig ist. Gleichfalls habe ich Beweise geliefert, daß die auf der ersten²⁾ undurchlässigen Schichte befindlichen wasserführenden Schichten nicht steril sind.³⁾ Die Sterilität der wasserführenden Schichten sollte, wie oben auseinandergesetzt wurde, die Bürgschaft liefern, daß der Filtrationseffekt der solchen Bodenschichten entstammenden Quell- oder Grundwässer ein absoluter, d. i. $\infty : 1$ gleich ist, in welchem Falle also der Zutritt von pathogenen Keimen in die betreffenden wasserführenden Schichten unter allen Umständen ausgeschlossen bleiben muß. Wenn es aber überhaupt keine sterilen wasserführenden Bodenschichten gibt, so wird auch die Forderung in bezug auf die Sterilität von solchen wasserführenden Boden-

1) Archiv f. Hygiene Bd. 44.

2) l. c.

3) Bei dieser Gelegenheit will ich gleichzeitig bemerken, daß nach meinen diesbezüglichen bisher nicht publizierten Untersuchungen sogar die unter der ersten undurchlässigen Schichte befindlichen wasserführenden Schichten, denen bekanntlich die artesischen Wässer entspringen, nicht als steril zu betrachten sind.

schichten hinfällig, welche zu Wasserversorgungszwecken ausgenutzt werden sollen.

Unter solchen Umständen gibt es wohl keinen anderen Ausgangspunkt, wie ich es in der oben zitierten Arbeit näher begründet habe, als den, für die unterirdischen Wässer, welche zu Wasserversorgungszwecken dienen sollen, eine bestimmte Grenze des Filtrationseffektes aufzustellen, unter welche ihr Filtrationseffekt (bedingt durch die Bodenschichten) nicht sinken dürfte.

In der diesbezüglichen Arbeit habe ich den Vorschlag gemacht, für diese Grenze den Wert des wirklichen Filtrationseffektes, welcher bei einer regelrecht betriebenen Sandfiltration im Stadium ihrer vollkommenen Wirksamkeit erreicht wird und welcher durch den Quotienten 7000: 1 gegeben ist, aufzustellen.

Nachdem wir die vorangehenden Bemerkungen vorausgeschickt haben, können wir wieder zu dem eigentlichen Gegenstande der vorliegenden Abhandlung zurückkehren.

Weiter oben wurde die Frage klargelegt, auf welche Weise es möglich wäre, mittels Nachweises des Bact. coli zu weiteren Kriterien für die Bewertung des Filtrationseffektes bei der Sandfiltration zu gelangen. Es wurde gezeigt, daß man dies durch die Bestimmung der Anzahl der Kolibazillen vor und nach der Filtration erreichen könnte.

Es ist klar, daß der eben angedeutete Untersuchungsvorgang sich prinzipiell mit demjenigen deckt, welcher zur Beweisführung, daß der bei der Sandfiltration erzielte Filtrationseffekt kein absoluter ist, und gleichzeitig zur Sicherstellung des wirklichen Filtrationseffektes verwendet wurde.

Wie bekannt, wurden zum letzterwähnten Zwecke Sandfilter von kleineren Dimensionen benutzt, und dann dem Wasser, welches den Filtern zugeführt wurde, Reinkulturen von verschiedenen Bakterienarten (Bact. viol., Bact. prodig., Bac. typhi usw.) zugesetzt.

1) Frankel-Piefke: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 8; Kabrhel: Archiv f. Hygiene Bd. 22.

Die Zahl derselben in einem bestimmten Wasserquantum wurde dann mittels bakteriologischer Untersuchung sowohl vor als nach der Filtration festgestellt.

Der aus diesen Zahlen gebildete Quotient stellt dann den wirklichen in dem diesbezüglichen Falle erzielten Filtrationseffekt dar. Nun ist aber bekannt, daß, wenn man in der Sandfiltrationspraxis sicherstellen will, ob die in Funktion begriffenen Filter korrekt arbeiten, zu diesem Zwecke niemals der wirkliche (oben definierte) Sandfiltrationseffekt festgestellt wird. Dies hat seinen einfachen Grund darin, daß die Frage, ob sich der Filtrationseffekt auf der erforderlichen Höhe hält, sich auf eine viel leichtere Weise entscheiden läßt.

Bekanntlich genügt hierzu die einfache Feststellung der im filtrierten Wasser enthaltenen Mikrobenzahl. Es wurde nämlich empirisch sichergestellt, daß, wenn die Zahl der im filtrierten Wasser befindlichen Mikroben sich in den Grenzen von 20 bis 40 Keimen bewegt, die Sandfilter den praktisch erreichbaren Vollkommenheitsgrad des Filtrationseffektes aufweisen. Solange also die Zahl der im filtrierten Wasser befindlichen Mikroben in den eben angeführten Grenzen schwankt, kann man den Schluß ziehen, daß jene ca. $\frac{1}{7000}$ betragende Quote der pathogenen Mikroben, an welcher Quote denselben die Tür offen steht, durch das Sandfilter durchzuschlüpfen, für das Auftreten von Infektionswirkungen nicht mehr wesentlich in die Wagschale fällt.

Wir sehen nun, daß auf Grund von empirischen Erfahrungen die Zahl der im filtrierten Wasser vorfindlichen Mikroben (ein absoluter Wert) zu einem wichtigen Indikator des wirklichen Filtrationseffektes (ein relativer Wert) geworden ist. Gleichfalls ist bekannt, daß auch bei Grundwässern unter bestimmten Umständen die Mikrobenzahl ein wertvolles Kriterium für die hygienische Begutachtung derselben bildet.

Es ist nun ersichtlich, daß, wenn es gelungen ist, in der Sicherstellung der einfachen Zahl der im filtrierten Wasser vorfindlichen Mikroben einen Indikator für das Verhalten des Filtrationseffektes bzw. für die Qualität des filtrierten Wassers zu finden, jedenfalls

die Möglichkeit besteht, auch das Bact. coli auf eine ähnliche Art für die Beurteilung von Trinkwasser heranzuziehen.

Man sieht aber gleichzeitig, daß man zu diesem Ziele auf keine andere Weise gelangen kann, als durch Anwendung von solchen Methoden, welche die Möglichkeit bieten, den Gehalt des Bact. coli quantitativ zu bewerten.

Kommt bei der Untersuchung auf das Bact. coli die oben angedeutete Richtung zum Ausdruck und wird das auf diese Art erlangte Resultat mit den durch andere Methoden erzielten Kriterien, insbesondere mit dem Lokalbefund, verglichen, so wird man nicht nur zur entsprechenden Verwertung des Kolibefundes für den untersuchten Fall, sondern im Laufe der Zeit zu solchen empirischen Erfahrungen gelangen können, welche das Verhältnis des Bact. coli zu einem guten oder schlechten Filtrationseffekt der Grund- und Quellwasser oder auch der künstlich filtrierten Trinkwässer näher beleuchten werden.

Die Notwendigkeit, den Nachweis des Bact. coli in der angeführten Weise zu kontrollieren, ist ein Punkt, dessen Wichtigkeit nicht genug hervorgehoben werden kann. Wir werden später Gelegenheit haben, Beispiele zu sehen, welche beweisen, wie die schablonenhafte Anwendung des Nachweises von Bact. coli ohne gleichzeitige Berücksichtigung aller in dem betreffenden Falle zur Geltung kommenden Beziehungen leicht auf Irrwege führen kann.

Nachdem gezeigt wurde, daß beim Nachweise von Bact. coli in Trinkwässern nur eine quantitativ vorgenommene Untersuchung zur Erlangung von weiteren brauchbaren Kriterien, betreffend die Beurteilung derselben, führen kann, müssen wir uns die Frage vorlegen, ob es überhaupt solche Methoden gibt.

Ich werde den Beweis erbringen können, daß schon die gewöhnlich zum Nachweis des Bact. coli angewendeten Anreicherungsverfahren, wie z. B. die Methode von P a r i e t t i, E i j k m a n n, P e t r u s c h k y, auch in bezug auf das quantitative Verhalten der betreffenden Mikrobe sehr wertvolle Schlüsse ermöglichen, welcher Punkt bisher in der betreffenden Literatur unberücksichtigt geblieben ist.

Zu diesem Zwecke wenden wir vorerst unsere Aufmerksamkeit der ältesten zum Nachweise des *Bact. coli* verwendeten, von P a r i e t t i¹⁾ angegebenen Methode zu.

Was einige Details, welche für die nachfolgende Diskussion von Wichtigkeit sind, betrifft, so soll das Nachstehende mitgeteilt werden:

Man nimmt 9 Röhren mit der gleichen Menge Bouillon (10 ccm); in 3 Röhren gibt man 3 Tropfen der Pariettlösung (4 ccm konzentrierte Salzsäure + 96 ccm 5 proz. Karbolsäure), in die weiteren 3 Röhren je 6 Tropfen und in die übrigen je 9 Tropfen.

In die Röhren der ersten Serie setzt man 4 Tropfen Wasser (ca. 0,2 ccm), in die der zweiten Serie 8 Tropfen (ca. 0,4 ccm), in die der dritten 12 bis 16 Tropfen (ca. 0,6 bis 0,8 ccm)²⁾. Die Röhren werden auf 24 Stunden in den Thermostaten bei 37° eingesetzt. Aus den getrühten Röhren wird alsdann das angereicherte Material auf Drygalskiplatten ausgesät, worauf die gewachsenen Kolonien weiter untersucht und qualifiziert werden.

Der Schwerpunkt, um auf Grund der Pariettischen Methode zur approximativen quantitativen Bewertung des *Bact. coli* in dem diesbezüglichen fraglichen Wasser zu gelangen, ist in dem nachstehenden Umstande zu suchen:

Es ist nämlich die Annahme berechtigt, daß das positive Resultat der genannten Untersuchungsmethode von einer bestimmten Grenzzahl der in einem bestimmten Volumen, z. B. in 1 l, enthaltenen Einzelindividuen abhängig sein muß.

Zur näheren Klarlegung dieser Schlußfolgerung sei das Nachstehende angeführt:

1) Dieselbe wurde ursprünglich von dem Autor für den Nachweis von Typhusbazillen im Trinkwasser empfohlen.

2) Es ist klar, daß das Wasser auch in einem anderen Volumverhältnis zugesetzt werden kann, als es P a r i e t t i angegeben (wenn nur die nötige Azidität des Nährbodens berücksichtigt wird). So z. B. wird in meinem Institute häufig die Untersuchung mit 1 ccm Wasser vorgenommen, welche Menge in mehrere Röhren mit Bouillon abgemessen und entsprechend mit der Pariettischen Lösung angesäuert wird.

Ausgehend von der günstigsten Voraussetzung, daß nämlich ein Einzelindividuum des *Bact. coli* in der nach *Parietti* zubereiteten Nährlösung schon fähig wäre, die Anreicherung vollzuführen, sieht man, daß, wenn in der Wassermenge von 0,2 bis 0,8 cm tatsächlich der zur Anreicherung nötige Koli-keim enthalten wäre, die Zahl derselben in 1 l ca. 1250 bis 5000 gleich wäre.

Trifft also die gemachte, möglichst günstige Voraussetzung, daß nämlich schon ein Koli-keim bei Anwendung der *Pariettischen* Methode zur Anreicherung genügt, zu, so ist der weitere Schluß berechtigt, daß, solange sich die Menge der Kolibazillen in den Grenzen von 1250 bis 1500 in 1 l oder auch höher darüber bewegen wird, man mit größter Sicherheit auf den Nachweis dieses Mikroben wird rechnen können.

Der Nachweis des *Bact. coli* mittels dieser Methode wird unter sonst gleichen Verhältnissen desto unsicherer, je mehr die Zahl der Koli-keime unter den Wert 1250 in 1 l sinken wird.

Sollte z. B. 1 l Wasser des fraglichen Wassers nur 50 Koli-keime enthalten, dann würde ein Koli-keim erst auf 20 ccm Wasser entfallen. Infolgedessen könnte man erst bei Anwendung von 20 ccm mit einer gewissen Sicherheit auf eine Anreicherung des *Bact. coli* rechnen.

Endlich erübrigt es noch, zu betonen, daß bei Anwendung eines Kunstgriffes sogar die Möglichkeit besteht, mit bestimmter Wahrscheinlichkeit den Grenzwert zu bestimmen, zu welchem sich der Gehalt an Koli-keimen in 1 l des diesbezüglichen fraglichen Wassers nähert.

Je kleiner nämlich die zur Untersuchung nach der *Pariettischen* Methode entnommenen Wassermengen gemacht werden, und je größer die Zahl derselben sein wird, desto sicherer wird man auf Grund der Anzahl der Röhrchen, in welchen die Anreicherung einerseits stattgefunden, andererseits nicht stattgefunden hat, zu der numerischen Grenze gelangen können, zu welcher sich die Zahl der in 1 l enthaltenen Mikroben nähert.

Zieht man nun alle bisher angeführten Momente in Betracht, so kommt man zu der nachfolgenden Schlußfolgerung: **G e l i n g t**

es bei Anwendung der Pariettischen Methode, mittels 0,1 bis 0,8 ccm Wasser das Bact. coli nachzuweisen, so handelt es sich in solchen Fällen um Wasser, in welchen das Bact. coli in einer großen Menge enthalten ist, welche mit größter Wahrscheinlichkeit nicht unter der Grenze 1250 bis 5000 stehen wird.

Dieser Abschätzung — vorausgesetzt den durchwegs positiven Ausfall dieser Probe in allen Röhren — wird eine um so größere Sicherheit zukommen, eine je größere Zahl von Röhren mit der zugesetzten Menge von 0,2 bis 0,8 ccm Wasser angelegt wurde.

In den vorangehenden Erwägungen ging man von der Voraussetzung aus, daß schon ein Koli-keim in der mit Pariettischer Lösung angesäuerten Bouillon einer Anreicherung fähig ist.

Einige Versuche, welche mein Assistent J. Partiš in meinem Institute diesbezüglich vorgenommen hat, sprechen zugunsten dieser Voraussetzung.

Gleichfalls ist es aber einleuchtend, daß auch in dem Falle, wenn 1 Koli-keim — wie es oben vorausgesetzt wurde — bei der nach Parietti durchgeführten Untersuchung zur Anreicherung nicht genügen sollte, diese Methode ihren Wert in bezug auf die quantitative Abschätzung des Bact. coli in Trinkwässern nicht ganz einbüßen würde.

Nur würde in diesem Falle — vorausgesetzt einen durchwegs positiven Befund des Bact. coli in allen Röhren — die Zahl der Koli-keime in 1 l Wasser über der Grenze 1250 bis 5000 stehen, und zwar um so mehr, je größere Zahl der Koli-keime in einem Röhren zur Anreicherung erforderlich wäre.

Da aber, wie oben gesagt wurde, experimentelle Erfahrungen dafür sprechen, daß schon 1 Koli-keim in der nach Parietti bereiteten Nährlösung zur Anreicherung genügt, so hat die vorangehende Deduktion eigentlich nur einen theoretischen Wert.

Es ist nun einleuchtend, daß die Menge von 1250 bis 5000 Koli-keimen in 1 l, auf welche die nach Parietti durchgeführte Untersuchung mit größerer oder kleinerer Wahrscheinlichkeit hin-

weist — der Maßstab dafür ist einerseits die Zahl der nach *P a r i e t t i* angelegten Röhrrchen, andererseits das numerische Verhältnis, in welchem die mit positivem zu den mit negativem Resultat behafteten Röhrrchen zueinander stehen —, schon an und für sich geeignet ist, gewisse Bedenken über die Qualität des fraglichen Wassers zu erwecken.

Diese Bedenken werden eine noch mehr konkrete Form erlangen, wenn wir die oben angeführte Zahl der Koliikeime im Rahmen des bei der Sandfiltration erreichbaren Filtrationseffektes einer näheren Betrachtung unterziehen werden.

Um eine diesbezügliche Betrachtung vollzuführen, stellen wir uns den Fall vor, daß das dem Sandfilter zugeführte Wasser in 1 ccm 10 000 Keime enthält, von welchen 1% auf das *Bact. coli* kommt, so daß also in dem Rohwasser 100 000 Koliikeime in 1 l enthalten sind¹⁾.

Unter Voraussetzung eines möglichst vollkommenen Filtrationseffektes (7000: 1) würde in diesem Falle 1 Koliikeim auf ca. 70 ccm filtrierten Wassers entfallen. Daraus folgt, daß bei Benutzung eines möglichst empfindlichen Anreicherungsverfahrens, d. h. wenn schon 1 Koliikeim des zur Anreicherung verwendeten Wasserquantums zur Anreicherung genügen würde, es unbedingt nötig wäre, wenigstens 70 ccm des unter den oben angegebenen Bedingungen filtrierten Wassers zur Anreicherung zu verwenden, um mit einer gewissen Sicherheit auf den Nachweis des *Bact. coli* rechnen zu dürfen.

Würde man von der Annahme ausgehen, daß das dem Sandfilter zugeführte Wasser in 1 l 6500 Koliikeime enthält, dann

1) Eine derartige Verunreinigung mit experimentellen Abfallstoffen, daß in 1 ccm Wasser 100 000 Koliikeime in 1 l (100 Koliikeime in 1 ccm) enthalten wären, ist jedenfalls als eine sehr hohe zu betrachten.

Als Beleg dafür kann angeführt werden, daß man bei Untersuchung einer Moldauwasserprobe, welche an einer der Verunreinigung durch exkrementelle Abfallstoffe sehr ausgesetzten Stelle entnommen wurde, in 1 l Wasser ca. 6500 Koliikeime gefunden hat.

Zum quantitativen Nachweis des *Bact. coli* wurde in diesem Falle die Fällungsmethode von *F i c k e r* angewendet, welche zu diesem Zwecke von meinem Assistenten *J. P a r t i š* entsprechend modifiziert wurde. Diese Arbeit wird für den Druck vorbereitet.

würde bei einem möglichst vollkommenen Filtrationseffekte (7000:1) 1 Koli-keim erst auf 1075 ccm filtrierten Wassers entfallen.

Soll bei einem solchen Wasser die Untersuchung auf Koli-keime positiv ausfallen, so würde man zu einer Einzeluntersuchung ca. 1 l Wasser brauchen (vorausgesetzt, daß schon ein einziger Koli-keim in der diesbezüglichen Nährmischung zur Anreicherung gelangen kann).

Diese Beispiele liefern einen deutlichen Beweis, daß bei einem Trinkwasser, dessen Filtrationseffekt den hygienischen Forderungen entspricht, der Nachweis des *Bact. coli* mittels Pariettischer Methode höchstens unter Verwendung eines sehr beträchtlichen Wasserquantums gelingen könnte.

Wenn aber die Pariettische Probe schon bei Verwendung des üblichen Wasserquantums, d. i. 0,2 bis 0,8 ccm, zum Nachweise des *Bact. coli* führt, so ist in einem solchen Falle der Verdacht begründet — vorausgesetzt, daß die Wasserentnahme unter den erforderlichen Kautelen stattgefunden hat —, daß ein so reichliches Vorkommen der betreffenden Mikrobe seine Ursache in einem mangelhaften Filtrationseffekt findet.

Die angeführten Deduktionen und Beispiele beleuchten hinreichend auch die Befunde jener Autoren, denen der Nachweis des *Bact. coli* erst dann gelungen ist, wenn dieselben 1 l Wasser zur Untersuchung genommen haben.

Hierher gehören namentlich jene positiven Ergebnisse der auf *Bact. coli* gerichteten Wasseruntersuchungen, welche im Grazer hygienischen Institute von K a i s e r hinsichtlich solcher Brunnen unternommen wurden, welche auf Grund des Lokalausweises als einwandfrei qualifiziert werden mußten.

Bei 30,7% von solchen einwandfreien Brunnen wurde in den entnommenen Wasserproben das *Bact. coli* sichergestellt. Die Deutung dieses Versuchsergebnisses blieb dem Verfasser unklar.

Es ist nun darauf hinzuweisen, daß, wenn man diese Befunde im Lichte der vorangehenden Deduktionen betrachtet, der Gegensatz zwischen dem lokalen und bakteriologischen Befunde verschwindet. Die Wassermenge, welche K a i s e r zum Nachweise des *Bact. coli* verwendete, betrug nämlich 1 l.

Weil aber zugleich die von Kaiser angewendete Anreicherungsmethode eine sehr empfindliche war — der Autor betont diesen Umstand in seiner Arbeit —, so kann man mit großer Wahrscheinlichkeit den weiteren Schluß ziehen, daß beim positiven Ausfall einer Untersuchungsmethode 1 Koli keim auf 1 l Wasser entfallen ist, in welchem Falle also der Filtrationseffekt der den diesbezüglichen Brunnen umgebenden Bodenschichten als ein überaus günstiger zu bezeichnen wäre.

Man sieht also, daß zwischen dem Lokalbefund und dem Resultat der bakteriologischen Untersuchung in diesem Falle nicht nur kein Gegensatz besteht, sondern daß im Gegenteile die Ergebnisse der beiden so differenten Untersuchungsmethoden im besten Einklang stehen.

Nun gehen wir zur Besprechung der von Petruschky-Pusch und Eijkman angegebenen Untersuchungsmethoden über.

Bei Petruschky-Pusch¹⁾ mischt man eine abgestufte Menge Wasser mit der gleichen Menge Bouillon, worauf das Gemisch auf 24 Stunden im Thermostat belassen wird.

Aus dem so gewonnenen Materiale werden Aussaaten auf Drygalskiplatten gemacht. Die Kolonien, welche dem *Bact. coli* entsprechende Eigenschaften zeigen, werden einer weiteren biologischen Untersuchung unterzogen (Vergärung von Traubenzucker, Säurebildung aus Milchzucker, Reduktion von Neutralrot usw.).

Handelt es sich um verhältnismäßig reine Wässer (Quell- oder Brunnenwässer), dann nehmen Petruschky-Pusch zur Untersuchung 100, 10, 1, 0,1 ccm Wasser (zu der letztangeführten Menge wird dann mehr als die gleiche Menge Bouillon zugesetzt).

Bei weniger reinen Wässern werden Verdünnungen, und zwar 1:100, 1:10 000, 1:100 000, vorgenommen. Das so verdünnte Material wird zur Aussaat in sterilisierte Bouillon benutzt, und zwar so, daß man 8 Röhrrchen füllt, wovon das erste die Wassermenge von 1 ccm, das zweite von 0,1 ccm, das letzte von 0,000 0001 ccm Wasser enthält. Im Thermostaten wird ein Teil der Röhrrchen

1) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 43 S. 304.

trübe, ein Teil bleibt klar. Bleiben z. B. die Röhren bis 0,1 ccm ganz klar, wogegen die Röhren von 1 ccm Wasser und höher trüb werden, sagt P e t r u s c h k y, daß das Wasser einen thermophilen Titer von »1« aufweist. Wird jedoch das Bact. coli im Röhren von 10 ccm Wasser nachgewiesen, im Röhren von 1 ccm aber nicht, dann heißt es, daß das Wasser einen Kolititer »10« hat. Da bei der Methode P e t r u s c h k y - P u s c h mit abgestuften Wassermengen gearbeitet wird, so kann man ganz analog wie bei der Pariettischen Methode Schlüsse, betreffend die in einem bestimmten Volumen enthaltene Zahl der Koli keime bzw. betreffend den diesbezüglichen Grenzwert, ziehen.

Bei dieser Gelegenheit erscheint es erforderlich, die Frage zu erörtern, welche minimale Zahl der Koli keime in der nach P e t r u s c h k y - P u s c h bereiteten Nährmischung enthalten sein muß, wenn eine Anreicherung des Bact. coli stattfinden soll.

Gewisse Anhaltspunkte bieten in dieser Frage experimentelle Untersuchungen von F e d e r o l f¹⁾, bei welchen in bezug auf Kolinachweis die Empfindlichkeit der F i c k e r s c h e n Methode mit derjenigen von P e t r u s c h k y - P u s c h und E i j k m a n n verglichen wurde.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß der Nachweis des Bact. coli nach P e t r u s c h k y - P u s c h bei Verwendung von Wassermengen, welche durchschnittlich 2,4, 1,9, 2,6 Koli keime enthielten, gelungen ist. Bei Verwendung eines Wasserquantums, welches 1,7 Koli keime enthielt, war das Resultat einmal positiv, einmal aber negativ.

Dabei bleibt allerdings die Frage offen, ob sich die Methode P e t r u s c h k y - P u s c h gleichempfindlich bei gleichzeitiger Konkurrenz von anderen Mikroben, namentlich Wasserbakterien, zeigen würde.

Es wurde nämlich bei den von F e d e r o l f unternommenen Versuchen sterilisiertes Wasser, dem eine Reinkultur von Bact. coli zugesetzt wurde, verwendet.

Nun wenden wir unsere Aufmerksamkeit der E i j k m a n n - s c h e n Methode¹⁾ zu!

1) Archiv f. Hygiene 1909 Bd. 70.
Archiv für Hygiene. Bd. LXXVI.

Dieselbe wird folgendermaßen ausgeführt: Das zu untersuchende Wasser wird mit $\frac{1}{8}$ Volum einer Stammlösung versetzt, welche 10% Pepton, 10% Glukose und 5% Kochsalz enthält.

Die Mischung wird in Gärröhrchen gefüllt und 24 Stunden in den Thermostaten gestellt. Die Anreicherung wird bei Temperatur von 46° vorgenommen, bei welcher Temperatur das Wachstum von anderen Arten der Mikroorganismen, außer dem Bact. coli, in der Regel unterdrückt wird.

Auf die Anwesenheit von Bact. coli kann geschlossen werden, wenn der Inhalt des Gärröhrchens diffus getrübt wird und wenn binnen 24 höchstens 48 Stunden eine reichliche Gasentwicklung eintritt. Eine weitere bakteriologisch diagnostische Untersuchung des eventuell angereicherten Materials wird nicht vorgenommen.

Es muß allerdings hervorgehoben werden, daß die Trübung des zuckerhaltigen Nährbodens und die Gasbildung bei 46° auch andere Organismen als das Bact. coli hervorrufen können, wie E i j k m a n n selbst angibt, wodurch der Nachweis des angeführten Mikroorganismus an Sicherheit verliert.

Analog den bei der Methode P a r i e t t i und P e t r u s c h k y - P u s c h angewendeten Deduktionen wäre anzunehmen, daß, würde man zur Eijkmanschen Probe eine abgestufte Wassermenge verwenden, es möglich wäre, auch bei der Benutzung dieser Methode zur Erlangung von Kriterien, betreffend den Grenzwert der in dem fraglichen Wasser enthaltenen Kolibazillen, zu gelangen.

Es ist jedoch zu bemerken, daß, insofern man nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse urteilen kann, die Eijkmansche Methode zu diesem Zwecke weniger geeignet erscheint als die Methode P a r i e t t i und P e t r u s c h k y - P u s c h.

Die oben zitierten Versuche von F e d e r o l f weisen nämlich darauf hin, daß die Zahl der Koliikeime in der nach E i j k m a n n hergestellten Mischung eine ziemlich hohe sein muß, wenn eine Anreicherung derselben zustande kommen soll.

So war in den diesbezüglichen Versuchen ein negatives Resultat der Eijkmanschen Probe in jenen Fällen zu verzeichnen,

1) Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. 37 S. 742.

bei welchen die zur Untersuchung verwendete Wassermenge durchschnittlich 1,7, 2,4, 5,0, ja sogar 26 Koliikeime enthielt.

Ein positives Resultat wurde in jenen Fällen erlangt, bei welchen die zur Untersuchung verwendete Wassermenge 8 und 15 Koliikeime enthielt. Es sei gleichzeitig bemerkt, daß bei den eben besprochenen Versuchen von F e d e r o l f die von B u l i r¹⁾ ausgearbeitete Modifikation der Eijkmannschen Methode benutzt wurde, bei welcher, wie bekannt, neben der Gasbildung noch die Einwirkung auf Neutralrot beobachtet werden kann.

Schließlich sei noch mit einigen Worten die Frage, betreffend die Verwertung des Nachweises des Bact. coli für die praktische Wasserbeurteilung, berührt.

Wie schon oben betont wurde, ist beim positiven Ausfall der auf das Bact. coli geführten Untersuchung gleichzeitig auch auf die mit Hilfe von anderen Untersuchungsmethoden, namentlich des Lokalaugenscheines, erlangten Resultate eine gebührende Rücksicht zu nehmen. Würde man eine solche Kontrolle unterlassen, so könnte es leicht geschehen, daß der auf Grund einer von den besprochenen Methoden erzielte Nachweis des Bact. coli den Begutachter auf falsche Bahnen irreführen könnte.

Zur näheren Begründung dieser Vorsichtsmaßregel sei das Nachstehende angeführt:

Der Verfasser hat mehrmals Gelegenheit gehabt, die Beobachtung zu machen, daß Wasser, welche unmittelbar nach erfolgter Brunnenteufung oder Brunnenbohrung entnommen und zur Untersuchung übermittelt wurden, bei Anwendung der Parie-tischen Methode die Anwesenheit des Bact.coli aufgewiesen haben.

Bei manchen Fällen dieser Art wurde dann durch die nachfolgende, mit Hilfe anderer Methoden, namentlich des Lokalaugenscheines und der chemischen Analyse, durchgeführte Untersuchung festgestellt, daß sowohl die Umgebung des Brunnens als auch die Bodenschichten, in welchen der Brunnen errichtet war, frei von jeglichen Verunreinigungsquellen waren.

Nach Anordnung einer ergiebigen Wasserentnahme (Wasser-austausch) ist das Bact. coli aus den diesbezüglichen Brunnen-

1) Archiv f. Hygiene Bd. 42.

wässern verschwunden. Gleichzeitig ist auch die Zahl der Keime zu minimalen Grenzen gesunken (in einem diesbezüglichen Falle enthielt z. B. das Wasser anfänglich 1897 Keime in 1 ccm; nach energischer Wasserentnahme ist die Zahl der Keime in 1 ccm auf 21 herabgesunken). Die Quelle des *Bact. coli* war in solchen Fällen jedenfalls in einer zufälligen Verunreinigung während der Bohrung oder Teufung (wahrscheinlich unter Vermittlung der oberflächlichen Bodenschichten) zu suchen.

In einem anderen Falle wurde das *Bact. coli* mittels Pariettischer Methode im Wasser einer Wasserleitung, welche eben fertiggestellt wurde, konstatiert.

Es handelte sich in diesem Falle um eine zufällige Verunreinigung der Wasserleitung, und zwar während des Baues derselben, welche Verunreinigung dann bei fortschreitender Ausspülung mit reinem Quellwasser verschwand.

In noch anderen Fällen, in welchen Quellwasser in bezug auf den Filtrationseffekt der wasserführenden Schichten einem zweifellos einwandfreien Niederschlagsgebiet entstammte, hat es sich gezeigt, daß das Vorkommen des *Bact. coli* in den betreffenden Quellwässern als die Folge einer ungenügenden Quellfassung zu betrachten sei.

Wenn aber, wie durch angeführte Beispiele nachgewiesen wurde, der Nachweis des *Bact. coli* in Trinkwässern bei mangelhafter Vorsicht auf Irrwege führen kann, so ist derselbe in anderen Fällen wieder geeignet, einen sehr wichtigen Fingerzeig zur Aufklärung von Beziehungen zu bieten, welche sonst der Aufmerksamkeit der kontrollierenden Organe entgehen könnten.

Als Beleg dafür sei der nachfolgende Fall mitgeteilt.

Dem Verfasser wurden im Auftrage der politischen Behörde Wasserproben aus einer Wasserleitung zur Untersuchung übermittelt, welche nicht lange Zeit zuvor in Funktion getreten war. In allen zur Untersuchung übermittelten Wasserproben (aus der Sammelanlage, aus dem Reservoir und einem Auslaufbrunnen entnommen) wurde der Nachweis des typischen *Bact. coli* erbracht.

Da dem Verfasser nähere Details, betreffend diese Wasserleitung, namentlich deren Niederschlagsgebiet und Quellfassung,

nicht bekannt waren, so hat derselbe den Schlußsatz seines Gutachtens, welcher sich auf die Bedeutung des nachgewiesenen Bact. coli bezog, sehr vorsichtig, und zwar in folgender Weise stilisiert:

Auf Grund des Resultates der bakteriologischen Untersuchung allein kann man sich nicht sicher aussprechen, ob die Anwesenheit des Bact. coli, welches zu den verdächtigen Mikroben gehört, mit bestimmten Mängeln des Filtrationseffektes, des Niederschlagsgebietes zusammenhängt, oder ob es sich in diesem Falle um eine akzidentelle Erscheinung, welche spontan verschwinden wird, handelt.

Dieses Resultat hat die weitere Untersuchung dieses Falles von seiten der diesbezüglichen Behörde veranlaßt. Es wurde dann festgestellt, daß das Wasser der Wasserleitung sich zeitweise trübt, und daß die zur bakteriologischen Untersuchung übermittelten Wasserproben während der Zeit einer solchen Trübung entnommen wurden.

Weil die Gemeinde auf den Antrag, betreffend die lokale Untersuchung der ganzen Anlage nicht eingegangen ist, so wurden abermals von der politischen Behörde Wasserproben entnommen und dieselben zur bakteriologischen und chemischen Untersuchung übermittelt.

In einer von den übermittelten Wasserproben wurde abermals Bact. coli commune nachgewiesen. Die chemische Untersuchung hat keine verdächtigen Merkmale an den Tag gefördert.

Durch behördliche Untersuchung wurde dann festgesetzt, daß 3 Tage vor der Entnahme der Wasserproben das Leitungswasser eine Trübung, welche sich nach einem Regen eingestellt hat, aufwies.

Wegen dieser Trübung war von seiten der Gemeinde eine Reinigung der Wasserleitung veranlaßt worden, welche der Entnahme der Wasserproben vorangegangen ist, aber die Spuren der zuvor bestehenden Verunreinigung nicht zu entfernen vermocht hat.

Die weitere eingehende von seiten der politischen Behörde unternommene Erhebung ergab folgendes:

In der unmittelbaren Nachbarschaft eines die Fassungsanlage (Galerie) tragenden Bodeneinschnittes wurde ein alter Brunnen gefunden, welcher bei Errichtung der neuen Fassungsanlage verschüttet wurde. Beim Regen ist das oberirdische Wasser infolge der Terrainconfiguration an den Ort geflossen, wo dieser Brunnen sich befunden hat. Da das Material, mit welchem der Brunnen verschüttet wurde, sich noch nicht genügend gesetzt hat, war die Vermutung begründet, daß auf diesem Wege bei Regenwetter das oberirdische Wasser in die naheliegende Fassungsanlage gelangte.

* * *

Oben wurde dargelegt, daß die quantitative Bestimmung im Wasser eine notwendige Bedingung sei, wenn man auf diesem Wege zu neuen, brauchbaren Kriterien, betreffend die Wasserbeurteilung, gelangen soll.

Wenn auch die Anreicherungsverfahren, wie oben gezeigt wurde, wertvolle Schlüsse bezüglich des quantitativen Gehaltes an *Bact. coli* ermöglichen, sind doch die erzielten Resultate nur als eine Schätzung mit einer bald größeren bald geringeren Wahrscheinlichkeit zu betrachten, und zwar je nach dem wie groß die Anzahl der zur Anreicherung angesetzten Proben war. Es ist klar, daß, wenn das *Bact. coli* intensiver und gleichzeitig auch präziser zur Beurteilung des Filtrationseffektes der Trinkwässer ausgenutzt werden sollte, dazu unbedingt eine Methode nötig wäre, welche es auch ermöglichen würde, das *Bact. coli* im Wasser direkt quantitativ zu bestimmen.

F i c k e r s Arbeit¹⁾ zur Bestimmung des *Bac. Typhi* durch die Fällungsmethode und die Resultate der F e d o r o f f ' schen²⁾ Versuche, durch welche der Beweis erbracht wurde, daß F i c k e r s Fällungsmethode mit Erfolg zum Nachweise des *Bact. coli* benutzt werden kann, ließen vermuten, daß das Fällungsprinzip auch für die quantitative Bestimmung des *Bact. coli* im Wasser angewendet werden könnte.

1) Archiv f. Hygiene Bd. 70 S. 311.

2) Hygienische Rundschau Bd. 14.

Tatsächlich ist es auch in meinem Institute J. Partiř, dem ich die experimentelle Durchführung dieser Aufgabe überwies, gelungen, das Fickersche Fällungsprinzip in eine Form zu bringen, welche die quantitative Bestimmung von Bact. coli auch in durch andere Wasserproben stark verunreinigten Wässern ermöglicht.

In Anbetracht der bisherigen mit dieser Methode erzielten Erfolge konnte man hoffen, daß man durch intensivere Verwendung dieser Methode den erforderlichen Überblick, betreffend die Verbreitung dieser Mikrobe in den Brunnen-, Quell-, Oberflächenwässern sowie seine Verbreitung in der Natur gewinnen könnte, um auf diese Weise zu genaueren Aufschlüssen über die Merkmale, inwiefern die Anzahl der Keime des Bact. coli zur Beurteilung des Wassers bzw. seines Filtrationseffektes ausgenutzt werden könnte, zu gelangen.

Da zahlreiche Erfahrungen darauf hindeuten, daß das Bact. coli im Brunnen- und Quellwasser keine günstigen Bedingungen zu seiner Vermehrung zu haben scheint, tritt die Möglichkeit heran, daß die Feststellung der Anzahl des Bact. coli namentlich in den zur Untersuchung angewandten Wässern vorgenommen werden könnte, was gewiß einen großen Vorteil gegenüber den heutigen Verhältnissen bedeuten würde. Ist es doch zur Genüge bekannt, daß die bloße Feststellung der Anzahl der Mikroorganismen sehr an Wert verliert, wenn nicht die Platten gleich nach der Entnahme der Probe an Ort und Stelle gegossen werden können.

Ein wichtiger Umstand bei einer solchen quantitativen Bestimmung des Bact. coli nach dem Prinzip der Fällungsmethode wäre ferner der, daß neben der quantitativen Bestimmung des Bact. coli noch die Möglichkeit des Nachweises von Bac. typhi oder Paratyphi bestehen würde.

Die Methode von Partiř wird demnächst in diesem Archiv publiziert werden. Untersuchungen über die quantitative Bestimmung des Bact. coli im Wasser nach dieser Methode sind im hiesigen Institute im Gange und haben bisher ermutigende Erfolge gegeben.

Studien über das Komplement.

Von

Privatdozent **Dr. P. Schmidt,**

I. Assistenten am Hygienischen Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig.

Vorstand: Geh. Rat Prof. Dr. Franz Hofmann.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. Mai 1912.)

In früheren Untersuchungen konnte ich feststellen, daß konzentriertes Komplement Berkefeldfilter zu mehr als 50% passiert, mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 10 verdünntes dagegen durch die Filtration wirkungslos wird.¹⁾ Die Auswahl gut funktionierender Filterkerzen ist dabei selbstverständliche Voraussetzung. — Aus diesem Verhalten des Komplements resultiert mit größter Wahrscheinlichkeit seine Kolloidnatur. Ich sprach die Vermutung aus, daß das Komplementkolloid infolge der Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung gröber dispers und daher leichter adsorbiert wird. Es kommt aber zweifellos auch ein anderer Umstand in Betracht. I m k o n z e n t r i e r -

1) P. Schmidt, Studien über das Wesen der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 69 und Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide Bd. 10: Die Wassermannsche Reaktion auf Syphilis eine Kolloidreaktion.

ten Zustände wirken die Eiweißkörper, insbesondere die Albumine als Schutzkolloide, so daß die Adhäsion zwischen Kieselguroberfläche und Komplementkolloid fast 0 wird.

Für die schützende Wirkung der Eiweißkörper spricht auch noch ein anderes Verhalten des Komplements. Filtriert man das gleiche Filtrat zu wiederholten Malen durch die gleiche Berkefeldkerze (bis 16 mal), so zeigt sich, daß der Eiweißgehalt des Filtrats immer geringer, ja allmählich fast 0 wird, während beim ersten Filtrat kaum eine nennenswerte Verminderung stattgefunden hat. Durch die allmählich einsetzende Anreicherung der Eiweißkörper in der Kerze wird eine Schutzwirkung auf das anfangs von der Kerze adsorbierte Komplementkolloid ausgeübt, seine Bindung wird gelockert, und es tritt zuweilen sogar in beträchtlichen Mengen in das Filtrat über. Gleichzeitig stellt sich auch eine stärkere oder geringere Opaleszenz des Filtrats ein, die ja dem verdünnten nicht filtrierten Komplement in stärkerem Maße eigen ist (Globulinopaleszenz). In einzelnen Fällen bleibt das Filtrat trotz eintretender Trübung wirkungslos. Das einmal von einer Berkefeldkerze adsorbierte Komplementkolloid ist durch Repulsion unter hohem Druck (3—4 Atm.) nicht mehr zu gewinnen.¹⁾

Die Wirkungslosigkeit des ersten Filtrats bezieht sich auf schwächere Ambozeptordosen, also etwa 2—4 fache Einzeldosen. Bei Verwendung eines Ambozeptorüberschusses tritt in vielen Fällen noch eine langsame Hämolyse ein, ein Beweis, daß doch gewisse kleine Mengen des Komplementkolloids passieren. So erklärt sich auch, daß ein an sich mit einer bestimmten Ambozeptormenge unwirksames Filtrat durch Vermischung mit einer an sich unwirksamen Menge frischen Komplements prompt löst. Es handelt sich also um eine Aktivierung des Filtrats durch Summation der Kolloidteilchen bis zur Schwellendosis ihrer Wirksamkeit.

1) E. Hesse: Das Berkefeldfilter zum Nachweis von Bakterien im Wasser. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 1911 Bd. 69 S. 531.

Komplementspaltung.

Nach den Arbeiten von Ferrata, Brand, Hecker¹⁾ u. a. ist das Komplement nicht mehr als einheitlicher Körper, sondern als ein aus zwei Komponenten, dem sog. »Mittelstück« und dem »Endstück«, zusammengesetzter Atomkomplex zu betrachten. Die eine Komponente soll am Globulinteil, die andere am Albuminteil des Serums haften. Beide sind durch die Methoden der Globulinfällung trennbar (Dialyse, Verdünnung des Serums mit aq. dest. und nachfolgender Säurebehandlung, am besten mit CO₂, nach Liefmann). Beide Komponenten sind für sich allein mehr oder weniger unwirksam, lassen sich aber wieder durch Vermischung zu voll wirksamem Komplement vereinigen. Durch längeres Verweilen des Globulinteils in physiologischer Kochsalzlösung wird dieser Teil jedoch unwirksam (Brandsche Kochsalzmodifikation des Mittelstücks), kann aber bis zu einem gewissen Grade durch Vorbehandlung mit stark sensibilisierten Blutkörperchen vor Hinzufügen des Endstücks wieder wirksam gemacht werden. Durch Aufbewahren in aq. dest. und im Albuminanteil, ferner auch durch stärkere Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung (10 faches Volumen des ursprünglichen Serums) behält das Mittelstück seine Wirksamkeit länger bei.²⁾

Liefmann und Cohn³⁾ haben auf Grund ausgezeichneter Untersuchungen Zweifel erhoben gegen die Auffassung des Globulinanteils als »Mittelstück«, welches zuvor gebunden werden müsse, damit das Albuminendstück wirken könne. Sie

1) Ferrata: Die Unwirksamkeit der komplexen Hämolyse in salzfreien Lösungen und ihre Ursache. Berlin, Klin. Wochenschrift 1907, Nr. 13. — E. Brand: Über das Verhalten der Komplemente bei der Dialyse. Berlin, Klin. Wochenschr. 1907 Nr. 34. — Hecker: Arbeiten aus dem Institut f. experiment. Therapie. Frankfurt 1909 Heft 3.

2) Thomsen u. Leschly: Über die Brandsche Modifikation des Komplementmittelstücks. Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experiment. Therapie 1911 Bd. 11.

3) Liefmann u. Cohn: Die Wirkung des Komplements auf die amboceptorbeladenen Blutkörperchen. Zeitschrift f. Immunitätsforschung u. experim. Therapie 1910 Bd. 7.

konnten feststellen, daß es nur in minimalen Mengen von sensibilisierten Blutkörperchen adsorbiert wird, daß der Abguß sogar oft mit neuen sensibilisierten Blutkörperchen prompt löst, während die zuerst hinzugefügten sensibilisierten Blutkörperchen fast ungelöst bleiben. Sie schließen aus ihren Befunden auf die Fermentnatur des Komplements, welches tatsächlich die Forderung an die Fermente, daß sie nicht oder nur minimal verbraucht werden, erfüllt. Der de facto eintretende Komplementschwund soll andere Gründe haben als einen Komplementverbrauch infolge Aktivierung.¹⁾

Mir scheint auf Grund eigener Untersuchungen, daß Liefmanns und Cohns Einwände vollauf berechtigt sind. Das ganze Verhalten des Komplements bei der »Spaltung in seine Komponenten« ist auch auf physikalisch-chemischer Basis im wesentlichen verständlich, wenn man von der Annahme eines einheitlichen Komplementkolloids ausgeht. Die sog. Spaltung des Komplements ist m. E. keine Spaltung im chemischen Sinne, sondern lediglich eine Adsorption auf die neugebildeten Oberflächen bei der Globulinausflockung.

Auf die große Affinität zwischen Globulin und Komplementkolloid habe ich in früheren Untersuchungen hingewiesen.²⁾ Dabei kam ich zu dem Schluß, daß der Dispersitätsgrad der Globulinteilchen von größtem Einfluß ist auf die Adsorptionskräfte gegenüber dem Komplementkolloid. Schon minimale Opaleszenz wirkt stark adsorbierend. Es versteht sich von selbst, daß der Ambozeptorgehalt bei solchen vergleichenden Versuchen richtig auszuwählen ist (Morgenroth-Sachs). Daß es für das spätere Schicksal des Komplementkolloids in kolloidchemischer Hinsicht nicht gleichgültig ist, wie das Globulinsediment mit seinem adsorbierten Komplementkolloid weiter behandelt wird,

1) Dieselben: Die Wirkung des Komplements auf die ambozeptorbeladenen Blutkörperchen, 2. Teil. Zeitschrift f. Immunitätsforschung u. experiment. Therapie 1911 Bd. 8.

2) P. Schmidt: Die Wassermannsche Reaktion — eine Kolloidreaktion. Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Colloide 1912 Bd. 10 Heft 1.

ist klar. Es ist vor allem nicht gleichgültig, ob das Globulin in eiweißfreier oder eiweißhaltiger Lösung konserviert wird. Im Albuminanteil wird das Komplementkolloid infolge total verschiedener Oberflächenspannung (Schutzwirkung!) sehr viel lockerer adsorbiert sein als in eiweißfreier Lösung. In destilliertem Wasser wird sich das Globulinmittelstück viel indifferent verhalten als etwa in Elektrolyten mit stärkerer oder geringerer Dissoziation. Die freien Ionen der physiologischen Kochsalzlösung scheinen einer allmählich fester werdenden Adsorption auf den Globulinoberflächen förderlich zu sein. Längst bekannt ist ja die wesentlich stärkere Adsorption von Farbstoffen bei Gegenwart von Elektrolyten (Bayliss, Pelet-Jolivet).¹⁾ Je stärker konzentriert die Globulinlösung selbst, je größer die Molekülverbände, desto intensiver die Adsorption des Kolloids.

Bei der Wiedervereinigung des Globulin- und Albuminanteils ist außer der schützenden Wirkung des besalzenen Albumins auch seine größere lösende Wirkung im Gegensatz zu physiologischer Kochsalzlösung zu bedenken. Eine vollständige Lösung des Globulinsediments gibt es bekanntlich in physiologischer Kochsalzlösung nicht. Die Lösungen sind stets opaleszent, während allerdings im Albuminanteil nachträglich sich bildende Globulintrübungen durch Besalzen vollständig behoben werden können. Die Globulinlösung geschieht durch den Albuminanteil entschieden viel rascher und vollständiger als in physiologischer Kochsalzlösung allein. Sehr viel besser löst eine physiologische Kochsalzlösung mit einem Sodagehalt von $n/200$, ohne das Komplementkolloid irgendwie zu schädigen. Zweifellos treten die OH-Ionen sofort an das Globulinmolekül, ohne dem Komplementkolloid zu schaden. An sich sind Sodalösungen von $n/200$ bekanntlich für Komplement-

1) Bayliss: Biochem. Journ. 1, 206 (1906). — Pelet-Jolivet: Bull. d. l. Soc. Vaud. d. Science natur. 45, 105 u. f. (1909).

verdünnungen 1 : 10 in physiologischer Kochsalzlösung bei einer Vermischung zu gleichen Teilen schon nachteilig.

So entfaltet denn auch das mittels Soda-kochsalzlösung $n/200$ gelöste Globulinsediment mit dem Albuminanteil eine ausgesprochen stärkere Wirkung als das in neutraler physiologischer Kochsalzlösung aufgenommene Globulin.¹⁾ Durch die Schutzwirkung des Albuminanteils werden dann die Komplementkolloidteilchen vollends von dem Globulin freigemacht. Gleichzeitig findet eine Summierung der Komplementteilchen des Globulins und des Albuminanteils statt. Wie schon erwähnt, ist eine vollständige Entfernung des Komplements bei der Globulinausflockung ebensowenig zu erwarten wie bei der Filtration durch Berkefeldkerzen.

Die Konzentration der Ambozeptoren ist natürlich für die Befreiung des Komplements von der Globulinumklammerung ebenfalls von Bedeutung. Je größer der Überschuß, desto mehr werden Komplementkolloidteilchen von der Globulinoberfläche abgelöst, die bei geringem Ambozeptorengehalt hängen bleiben würden. Man kann diese Beziehungen mit reinen Globulinlösungen (inaktiven), die man mit frischem Komplement versetzt, leicht studieren. Je stärker die Globulinlösung ist, je länger die Bindung bei 37° andauert, desto konzentrierter Ambozeptoren bedarf es, um das schon adsorbierte Komplement wieder zur Hämolyse vom Globulin zu befreien. Betont sei, daß die Lösung der Blutkörperchen durch Hinzufügen selbst völlig inaktiven Albumins als Schutzkolloid wesentlich beschleunigt wird.

Von größter Bedeutung für die Auffassung dieser Vorgänge scheint mir die Tatsache zu sein, daß das Komplementfiltrat durch Berkefeldfilter genau die gleiche Wirkung auf das Komplementglobulinsediment ausübt wie der Abguß bei der Dialyse oder der Ausflok-

1) Siehe bezüglich der suspendierenden und emulgierenden Wirkung des OH-Ions auf negative Kolloide Freundlich, Kapillarchemie S. 360, 367 u. folg.

kung mittels Verdünnung und Säurezusatz. Durch Inaktivieren wird das Filtrat ebenso unwirksam wie das »Endstück«. Seine Schutzwirkung bleibt zwar erhalten, aber der noch latente Kolloidrest wird vernichtet, so daß es nicht mehr zu einer Summierung der Kolloidteilchen bis zum Schwellenwert der Wirkung kommen kann. Ebenso unterliegt ja auch nach Brand und Hecker das »Mittelstück« der inaktivierenden Wirkung. An und für sich wäre eine größere Widerstandsfähigkeit der im konzentrierten, ausgeflockten Globulin eingebetteten Komplementteilchen gegenüber den im verdünnten Zustande der Kochsalzlösung vorhandenen nicht unwahrscheinlich. Getrocknetes Komplement ist z. B. gegen Erhitzung bekanntlich sogar sehr unempfindlich.

Daß durch die verschiedene Wirkung der Globulinausflockung und die verschiedene nachträgliche Adsorption des Komplements an die neuen Oberflächen, ferner durch den verschiedenen Komplementrest im Albuminanteil von vornherein auch schon durch den verschiedenen Eiweißgehalt des Serums außerordentliche Schwankungen im Endeffekt der Hämolyse eintreten können, ist vorausszusehen. Es wird selbst bei ein und demselben Serum praktisch nicht möglich sein, kolloidchemisch völlig gleiche Versuchsverhältnisse zu schaffen.

Ein Umstand von Interesse soll hier noch Erwähnung finden. Verwendet man zur Komplementbindung mittels Globulinkochsalzlösung das eine Mal unfiltrierte, das andere Mal durch Fließpapier ca. 5—6 mal filtrierte noch immer fast gleich opaleszente Lösungen, so tritt bei der nachfolgenden Hämolyse doch ein deutlicher Unterschied zugunsten der filtrierten Globulinlösung zutage. Die Lösung geschieht hier entschieden rascher und wirksamer, wiewohl bei einer Filtration mit Fließpapier die die größere Masse bildenden feiner dispersen Kolloidteilchen nicht abfiltriert werden können. Es scheint mir aus diesem Verhalten hervorzugehen, daß die schon mittels Fließpapier auszuschcheidenden Globulinteilchen eine ganz besonders starke Adsorptionswirkung ausüben, daß also nicht allein die Masse des Globulins, sondern seine Korngröße maßgebend

sein muß. Vielleicht, daß gerade die gröber disperse Quote des Globulinkolloids eine Art Schutzmantel um die sensibilisierten Blutkörperchen darstellt, dergestalt, daß die gröberen Teilchen das Kolloid des Komplements abfangen, bevor es an die Blutkörperchen tritt. Zentrifugiert man nun ein solches Gemisch, so ist zu erwarten, daß nach Wegfall der stark adsorbierenden Quote des Globulins mit dem Abguß und seinen weniger adsorbierenden feiner dispersen Globulinteilchen erneut Hämolyse eintritt. So erklären sich vielleicht die Befunde *Liefmanns* und *Cohns*, die mit dem Abguß oft bessere Hämolyse erzielten als mit dem Zentrifugat.

Zusammenfassung.

1. Bei wiederholter Filtration verdünnten Komplements durch das gleiche Berkefeldfilter tritt des öfteren schon mit schwachen Ambozeptordosen nachweisbares Komplementkolloid in das Filtrat über infolge Anreicherung der Eiweißkörper und ihrer Schutzwirkung in der Kerze.

2. Das erste, bei guten Filterkerzen fast immer unwirksame eiweißreiche Filtrat vermag das sog. Komplementmittelstück ebenso zu aktivieren wie der besalzene Albuminabguß, der bei der Globulinausflockung mittels Dialyse oder mittels Säurebehandlung nach Verdünnung mit aq. dest. gewonnen wird.

3. Das Komplementkolloid ist mit größter Wahrscheinlichkeit ein einheitliches Eiweißkolloid und wird bei der Globulinausflockung nur mitgerissen und physikalisch adsorbiert, nicht chemisch gespalten.

4. Das weitere Schicksal des adsorbierten Komplements hängt von dem umgebenden Medium ab. In Albuminlösung bleibt die physikalische Bindung eine lockere, leicht lösbare, infolge der Schutzwirkung der Albumine. Ebenso verhält es sich in elektrolytfreiem Wasser. In physiologischer Kochsalzlösung scheint die Adsorption eine immer stärkere zu werden, so daß schließlich schon nach einer Reihe von Stunden eine Loslösung des Komplementkolloids mißlingen kann. Je zahlreicher und vor

allem je größer die Globulinteilchen in einem bestimmten Volumen, desto mehr wird Komplementkolloid fest gebunden.

5. Albuminlösungen und hämolytische Ambozeptoren vermögen die Adsorption des Kolloids, wenn sie nicht schon zu fest geworden, zu lockern und das Komplement völlig freizumachen.

6. Sowohl der aktive Albuminabguß als auch das aktive Komplementfiltrat enthalten noch Komplementkolloid, welches mit starken Ambozeptordosen häufig noch nachweisbar ist. Es tritt also bei der Mischung von Globulinsediment und Albuminabguß nicht nur eine Befreiung des Komplementkolloids von der Globulinoberfläche, sondern gleichzeitig auch eine Summierung der Komplementkolloidteilchen bis zur Schwellendosis der Wirksamkeit ein.

Untersuchungen über die Häufigkeit bestimmter Bakterien (namentlich Sarcinen) in der Luft und deren Herkunft.

Von

Dr. Harrie Schütze aus Melbourne,
bisheriger Assistent am Hygienischen Institut Würzburg.

(Bei der Redaktion eingegangen am 12. Mai 1912.)

Auf Agarplatten, die der Luft im Würzburger hygienischen Institut exponiert werden, wachsen auffallenderweise stets eine Anzahl Sarcinenkulturen. Über die Herkunft dieser Keime habe ich in der Literatur gar nichts finden können und ich setzte, um diese zu ermitteln, die folgende Versuchsreihe an. Obwohl ich mein Ziel nicht völlig erreicht habe, gibt meine Untersuchung Befunde, die des Mitteilens wert sind und welche als eine Art Vorstudium für die Frage dienen können.

Ich habe durchweg den gewöhnlichen Fleischwasserpeptonagar als Nährmedium benutzt, denn meine Absicht war nicht, eine möglichst große Anzahl von möglichst verschiedenen Keimarten zu bekommen, sondern mit einem einzigen einfachen Nährboden in möglichst verschiedenen Gegenden die Luft zu untersuchen.

Die unter diesen gleichen Bedingungen gewonnenen Kolonien sollten nach ihren Genera bestimmt werden, durch die relative

Häufigkeit ihres Vorkommens hoffte ich über den Herkunftsort der Sarcinen Kenntnis zu bekommen.

Agarplatten von der gewöhnlichen Größe wurden je nach dem Ort verschieden lang exponiert, sieben Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt und am Ende dieser Zeit untersucht, wobei ein fuchsingefärbtes Präparat von jeder einzelnen Kolonie gemacht wurde.

Die Zeit des Exponierens der Platte wurde so gewählt, daß die Platten nicht zu stark besät waren, und die Anzahl der Platten meistens so, daß eine Mindestgesamtzahl von 50 Kolonien erreicht wurde.

Bei der Bestimmung der Kolonien wurden in den letzten Versuchen die Schimmelpilze, Hefen und Actinomyceten beiseite gelassen, gleichfalls die Familie Spirillaceae, wobei ich gleich hier bemerken möchte, daß ich niemals ein Spirillum unter die Hände bekam, oder einen deutlichen Vibrio, dagegen Hyphomyceten und Saccharomyceten fast auf jeder Platte, die Schimmelpilze manchmal in solcher Anzahl, daß ihre Berücksichtigung eine ganz abnorme relative Zahl der Sarcinen gegeben hätte.

Diese Verschiebung der Prozentzahl der Sarcinen durch das Vorherrschen einer bestimmten Gattung, z. B. der Kokken in einem Tierstall, darf niemals außer Auge fallen; hier muß die absolute Zahl als Korrektur helfen.

Die absolute Zahl der Sarcinen allein zu benutzen, finde ich falsch, denn wegen Verschiedenheit in den Luftbewegungen und in der nahen Vorgeschichte des Untersuchungsortes (Wetter, Putzen des Raumes etc.) können keine direkten Vergleichen gemacht werden.

Es wurden in den letzten Versuchen nur Mitglieder der Familien Coccaceae und Bacteriaceae nach ihren Genera bestimmt; in allen Versuchen wurden die Genera Streptokokkus und Mikrococcus zusammen unter den Titel »Andere Kokken« genommen und die Genera Bacterium und Bacillus auch zusammen als »Stäbchen«. Dies geschah, weil Streptokokken äußerst selten vorkamen und Bazillen, wenn sie vielleicht öfters wuchsen, sehr selten sich durch Sporenbildung zu erkennen gaben.

Schwierigkeiten in der Bestimmung gab es eigentlich nur manchmal bei Keimen von ovaler Form, wo man nicht leicht sagen konnte, ob sie zu den Kokken oder Stäbchen gehörten. Die Sarcinen waren immer gut zu erkennen.

Tabelle I.

Geordnet nach der Zahl der gefundenen Spaltpilze.

Untersuchungsort	Zahlen umgerechnet auf drei Platten und eine Exponierungszeit von 5 Sek.			
	Spaltpilze	Sarcinen	andere Kokken	Stäbchen
Kuhstall (Rotkreuzhof)	1833	3,3	966	864
Kuhstall (Nebenraum)	1027	13,1	452	465
Lumpenhändlerladen	897	5,7	560	332
Pferdestall	672	4,3	562	105
Tierzimmer im Institut	522	9	372	141
Tierhändler	478	33,7	292	152
Scheune (Rotkreuzhof)	175	4,5	103	67
Botanischer Garten	155	11	50	94
Wohnzimmer	150	18	42	90
Hof eines Wohnhauses	139	9	58	72
Blumenladen	104	19	30	55
Buchbinder (Arbeitszimmer)	78	15	35	28
Getreideladen	67	16	29	22
Fabrikzimmer	58	8	22	28
Theater (am Tag)	37	3	16,8	17,2
Gemüseladen	29	3	13	13
Hörsaal (nach Kolleg)	20	3,3	6,7	10
Kirche	14	1,7	4,9	7,4

Die hier nicht aufgenommenen Untersuchungen hatten keine genauen Exponierungszeiten.

Tabelle II.

Die Reihenfolge der Untersuchungsorte folgt dem Prozentgehalt an Sarcinen.

Untersuchungsort	Absolute Zahlen der bestimmten Kolonien							Relative Zahlen. Auf 100 Spalt- pilze kommen		
	Total	Sarcinen	andere Kokken	Bazillen + Bakterien	Schimmel	Hefe	Actino- myces	Sarcinen	andere Kokken	Bazillen + Bakterien
Getreideladen	76	16	29	22	8	0	1	23,9	43,3	32,8
Buchbinder (Arbeitszimmer)	83	15	35	28	1	3	1	19,2	44,9	35,8
Blumenladen	127	19	30	55	19	2	2	18,3	28,8	52,8
Telephonbureau	60	11	25	24	—	—	—	18,3	41,7	40,0
Hörsaal (nach Kolleg) . . .	25	4	8	12	0	1	0	16,7	33,3	50,0
Fabrikzimmer	68	8	22	28	9	1	0	13,8	37,9	48,2
Schlafzimmer	110	14	56	40	—	—	—	12,7	50,9	36,4
Schlafzimmer	79	10	42	27	—	—	—	12,7	53,2	34,2
Kirche	42	5	15	22	—	—	—	12,3	36,2	51,4
Wohnzimmer	177	18	42	90	26	0	1	12,0	28,0	60,0
Gemüseladen	92	3	6	13	63	0	0	10,3	44,8	44,8
Schlafzimmer	70	6	44	20	—	—	—	8,6	62,9	28,6
Theater (am Tag)	110	9	50	51	—	—	—	8,2	45,5	46,3
Botanischer Garten	162	11	50	94	4	3	0	7,1	32,3	60,6
Tierhändler	282	18	156	81	19	1	7	7,1	61,2	31,8
Speisekammer der Küche . .	103	7	59	37	—	—	—	6,8	57,3	35,9
Hof eines Wohnhauses . . .	169	9	58	72	22	6	2	6,5	41,7	51,8
Küche mit Katze	123	4	74	45	—	—	—	3,3	60,2	36,6
Scheune (Rotkreuzhof) . . .	146	3	69	45	14	4	11	2,6	59,0	38,5
Tierhändler	81	2	56	23	—	—	—	2,5	69,2	28,4
Tierzimmer im Institut . . .	180	3	124	47	5	0	1	1,7	71,2	27,0
Speisekammer der Küche . .	68	1	40	27	—	—	—	1,5	58,8	39,6
Kuhstall (Nebenraum) . . .	569	7	241	300	15	0	6	1,3	44,0	54,7
Lumpenhändlerladen	334	2	196	116	19	0	1	0,6	62,4	37,0
Pferdestall	314	2	263	49	—	—	—	0,6	83,7	15,6
Kuhstall (Rotkreuzhof) . . .	569	1	290	259	13	0	6	0,2	52,7	47,1
Küche mit Katze	68	0	41	27	—	—	—	0	60,3	39,7
Tierzimmer im Institut . . .	130	0	118	12	—	—	—	0	90,8	9,2
Gewächshaus 18°	55	0	8	47	0	0	0	0	14,5	85,5

— bedeutet nicht untersucht.

Weitere Untersuchungsorte waren die Mundhöhle und Haare von Menschen und Tieren und die Haut der ersteren.

Im Speichel und auf den Haaren von Tieren (Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen) fand ich vorwiegend Mikrokokken, viel weniger Stäbchen und keine Sarcinen. Vom Menschenhaar

geimpft zeigten die Platten Mikrokokken und Hefekolonien und wiederum keine Sarcinen; auch im Speichel und von der Haut verschiedener Personen konnte ich keine Sarcinen züchten, im ersten Fall nur Hefen und Stäbchen und im zweiten wuchsen Mikrokokken und Stäbchen.

Die Körper von Mensch und Tier sind also nicht als Vermehrungsorte der Sarcinen anzusehen, dagegen stimmte das Auftreten der Mikrokokken in einer so großen Zahl recht gut mit den Befunden in der Luft; denn man sieht aus den Tabellen ganz klar, daß, wo Tiere anwesend sind, die Anzahl der Mikrokokken bedeutend in die Höhe steigt; man kann also annehmen, daß die Mikrokokken der Luft hauptsächlich von Tier- und Menschenkörpern herkommen. Ähnliches hat K o n i n g (Milchwirtschaft, Zentralblatt 1906, 6 u. 7) gefunden; die Bakterien der Stallluft sollen nach ihm ihre Herkunft am Tierkörper haben.

In meinem Suchen nach dem Herkunftsort der Sarcinen habe ich Straßen- und Wohnungsstaub untersucht. Hier wieder waren es die gewöhnlichen Mikrokokken und Stäbchen, welche zum Wachstum kamen, und keine Sarcinen. In Wohnungen hauptsächlich die Mikrokokken, auf der Straße die Stäbchen.

Sehr interessant war es zu sehen, daß in dem Hygienischen Institut, wo alljährlich zweimal die Holzböden mit staubbindendem Mineralöl gestrichen werden, des öfters die Staubproben aus Ritzen und Ecken genommen, Sterilität zeigten, und das, obwohl die letzte Ölbehandlung schon einige Monate zurück lag. Das Öl scheint nicht nur eine staubbindende Wirkung auszuüben, sondern auch eine sterilisierende.

In Tabelle III gebe ich kurz die Resultate dieser Versuche, bevor ich zu der Besprechung der Luftuntersuchungen übergehe.

Tabelle III.

Untersuchungsort	Auf 100 Spaltpilze kommen		
	Sarcinen	andere Kokken	Stäbchen
Meerschwein Speichel	0	96	4
» Haar	0	92	8
Hund Speichel	0	100	0
» Haar	0	92	8
Mensch Speichel	0	0	100
» Haut	0	12	88
» Haar	0	80	20
Staub von der Straße	0	26	74
Staub vom Treppenhaus im Institut	0	41	59
Staub von einer Wohnung	0	98	2
Staub von Institutszimmern, wo die Holzböden einige Monate vorher mit Öl gestrichen waren			

Zweimal ist nur Schimmel
spärlich gewachsen, zweimal
blieben die Platten steril.

Tabelle I zeigt deutlich den Einfluß der Anwesenheit von Tieren auf den Keimgehalt der Luft. Die Tierställe nehmen die ersten Plätze ein und überragen die anderen untersuchten Orte bei weitem, selbst wenn sie von vielen Menschen besetzt waren, z. B. das Buchbinderzimmer, wo über 30 Arbeiter beschäftigt waren und welches während der Arbeitszeit untersucht wurde. Daß der Lumpenladen einen Platz darunter findet, obwohl nur von einer Person benutzt, hängt wohl von der staubigen Natur der Arbeit ab.

In Tabelle II sind zuerst die absoluten Zahlen der gewachsenen Kolonien angegeben und quantitativ die Arten, aus denen sie bestehen. Dann in der zweiten Einteilung der Tabelle die Prozentgehalte der gefundenen Spaltpilze an Sarcinen, anderen Kokken und Stäbchen. Die Einreihung folgt der Größe des Prozentgehaltes an Sarcinen. Im Gegensatz zu den Gesamtzahlen zeigen diese Sarcinenzahlen keine Vergrößerung durch die Anwesenheit von Tieren.

Der Kuhstall, dessen Luft so viele Keime enthielt, hat nur 0,2% Sarcinen, die Pferde- und Institutstierställe nicht viel mehr.

Es sind die verschiedenen Läden und andere von Menschen bewohnten Zimmer, die die höheren Zahlen zeigen. Auch die absoluten Zahlen (siehe Tabelle I) bestätigen dieses. Denn nur der »Kuhstall (Nebenraum)« hat unter den Tierställen einen höheren Sarcinengehalt. Der Tierhändlerladen, welcher eine so hohe Zahl aufweist, ist ein Laden wie andere Läden und kann nicht zu den Tierställen gerechnet werden.

Worauf dieser Unterschied beruht, habe ich nicht herausbringen können. Wie vorher gesagt, scheint der menschliche Körper nicht ein Vermehrungsort der Sarcinen zu sein und ich kann nur annehmen, daß die von Menschen bewohnten Räume Zustände (Feuchtigkeit, Wärme) bieten, die das Wachstum der Sarcinen begünstigen, auf was für einem Nährboden dies immer sein mag.

Der Prozentgehalt der Luft an Mikrokokken dagegen ist durch die Anwesenheit von Tieren begünstigt (Tab. II), was nach den Resultaten der Untersuchungen der Oberfläche von Tierkörpern und deren Speichel zu erwarten ist.

Die Stäbchen dagegen scheinen mehr von den Luftbewegungen abhängig zu sein. Da, wo Tiere sind, kommen sie deswegen häufig vor, und auch im Freien (Botanischer Garten); wo Tiere und Menschen kaum in Frage kommen (Gewächshaus, ein geschlossenes Glasgebäude), ist die Prozentzahl der Stäbchen besonders hoch.

Die Brauchbarkeit der Nährlösung nach Seitz als Ersatz für Lackmusmolke.

Von

Dr. G. Seiffert und T. Wymer,

I. Assistent der Anstalt. Medizinalpraktikant.

(Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 29. Juli 1912.)

Die Bedeutung der Lackmusmolke, die Petruschky ursprünglich zur Diagnose des Typhus angegeben hatte, wurde durch die Möglichkeit, mit dieser Nährflüssigkeit Bakterien der Paratyphusgruppe von Typhusbazillen kulturell zu differenzieren, erhöht.

Der Wert der Lackmusmolke wird durch den Umstand, daß eine gleichmäßige Herstellung fast unmöglich ist, etwas gemindert. Die Molke wird wegen dieser Schwierigkeiten selten im Laboratorium hergestellt, zumal von der Firma Kahlbaum ein relativ gleichmäßiges Produkt in den Handel gebracht wird. Erfolgreiche Versuche, einen allseitig genügenden und in der Zusammensetzung dauernd gleichwertigen Ersatz der Lackmusmolke zu finden, sind bisher nicht mitgeteilt worden. Die Nährflüssigkeiten Barsiekows und Proskauer-Capoldis sind nicht als solche anzusehen, da sie eine Paratyphusdifferenzierung nicht ermöglichen. Einen bedeutenden Fortschritt scheint eine Mitteilung von Seitz, in der er einen Ersatz der natürlichen Lackmusmolke angibt, zu bringen.

Auf Grund größerer Vorversuche hat der Autor eine Nährflüssigkeit zusammengestellt, die nach seinen Angaben der natürlichen Lackmusmolke gleichwertig ist.

Da die interessanten Voruntersuchungen von Seitz für die Wirksamkeit der einzelnen Bestandteile eine Erklärung bieten, mögen an dieser Stelle kurz die Ansichten rekapituliert werden, die der Verfasser sich über den Vorgang der Säure- und Alkalibildung beim Wachstum der Bakterien in der natürlichen Lackmusmolke an Hand exakter Experimente gebildet hat.

In einer erschöpfenden Literaturübersicht weist er auf die abweichenden Ergebnisse hin, die eine große Anzahl von Autoren bei Benutzung der Lackmusmolke nach Petruschky erhalten hat. Er erklärt die oft widersprechenden Resultate durch die wechselnde Beschaffenheit der Lackmusmolke. Aus seiner Zusammenstellung ist zu entnehmen, daß die Lackmusmolke Petruschky's nicht als eine gleichmäßige Nährflüssigkeit angesehen werden darf, die unter allen Umständen ein eindeutiges Resultat für die kulturelle Diagnose ergibt.

Die Säure- und Alkalibildung in der natürlichen Lackmusmolke verläuft nach Seitz bei den einzelnen Bakterienarten in verschiedener Weise. Die Produktion der Säure und des Alkalis ist in erster Linie von der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Nährbodens abhängig.

Die starke Rötung der Lackmusmolke nach Beimpfung mit *Bact. coli* ist auf das sehr ausgebildete Vermögen der Kolibazillen, Milchzucker unter Milchsäurebildung zu vergären, zurückzuführen. Die Typhusbazillen bilden nach den Versuchen von Seitz die Säure nicht aus dem Milchzucker, sondern einmal durch Zersetzung eines zweiten (wahrscheinlich) neben dem Milchzucker in der Milch enthaltenen Kohlehydrats und ferner hauptsächlich aus Spaltungsprodukten des Milchzuckers, die entstehen, wenn Milchzucker bei Zusatz geringer Alkalimengen erhitzt wird. Seitz fand, daß der Säuregehalt der Nährlösung nach dem Kochen um so stärker wird, je mehr Alkali vor dem Kochen zugesetzt wird, und daß die durch den Typhusbazillus gebildete Säuremenge entsprechend der Größe des vorherigen Alkalizusatzes

zunimmt. Dadurch, daß diese neugebildeten, von Typhusbazillen spaltbaren Körper nur in geringeren Mengen in der Molke enthalten sind wie der Milchzucker, der nicht von den Typhusbazillen angegriffen wird, wird die schwache Rötung der Lackmusmolke, wie sie im Gegensatz zu der Milchzuckerzersetzung der Kolibazillen von den Typhusbazillen hervorgerufen wird, erklärt. Andererseits weisen diese Beobachtungen auch auf die Schwierigkeiten der Herstellung einer gleichmäßigen Lackmusmolke hin, da der Alkalizusatz und die Dauer des Kochens auf den Wert der Lackmusmolke zur Typhusdiagnose von größter Bedeutung sind. Es können diese unbekanntenen Körper durch stärkeren Zusatz von Alkali und längeres Kochen in einer Menge abgespalten werden, daß Typhus und Bact. Coli in der Lackmusmolke ein gleiches Säurebildungsvermögen besitzen.

Für die Alkalibildung in der Lackmusmolke sind Eiweißkörper nur zum kleinsten Teil als Quelle anzusehen, da in der Molke nur sehr geringe Mengen Eiweiß vorhanden sind; ebenso gering ist die Bedeutung des Harnstoffs für die Alkalibildung. Die Hauptursache ist die Zersetzung der Alkalisalze der Zitronensäure, die zu 0,1 bis 0,15% in der Milch enthalten sind, zu Alkalikarbonat. Fernerhin kommen noch die Alkalisalze der beim Kochen aus Milchzucker abgespaltenen Milchsäure in Betracht, welche zu Karbonaten oxydiert werden können. Das Alkali wird sowohl von Typhus- wie Paratyphusbazillen gebildet. Beide bilden neben dem Alkali auch Säure, Paratyphus sogar in etwas höherem Maße wie der Typhusbazillus. Der Umschlag nach Blau bei Paratyphusbazillen ist durch eine größere Wachstumsintensität der Paratyphusbazillen gegenüber den Typhusbazillen zu erklären. Seitz fand vereinzelte Typhusstämme, die in der Lackmusmolke ziemlich üppig wachsen, und konnte bei diesen auch nach mehrwöchentlichem Aufenthalt im Brutschrank einen Umschlag nach Blau feststellen. Auch Paratyphus A und Dysenteriebazillen zeigen in der Lackmusmolke nur ein geringes Wachstum und verhalten sich daher wie Typhusbazillen.

Der typische Umschlag der Reaktion bei Paratyphus B-Bazillen kommt dadurch zustande, daß die Alkalibildung bei dem

üppigen Wachstum der Paratyphus-B-Bazillen die Säurebildung überwiegt. Die zeitlichen Schwankungen im Umschlag der Reaktion bei Paratyphus B-Bazillen sind durch den verschiedenen Gehalt an zersetzlichen Kohlehydraten in der Molke erklärbar. Solange bis diese Stoffe vollkommen zersetzt sind, überwiegt die Säurebildung der Paratyphusbazillen, dann erst setzt bei fortschreitendem Wachstum die Alkalibildung und hiermit der Umschlag von Rot in Blau ein. Neben der Zusammensetzung der Molke erklärt daher auch die Wachstumsenergie die Schnelligkeit des Umschlags. Die Unterschiede zwischen Typhus, Paratyphus A, Ruhr auf der einen und Paratyphus B auf der anderen Seite sind nur rein quantitativer Natur und vollkommen von dem Verhältnisse der Molkenbestandteile abhängig.

Die Ungleichheit in der Zusammensetzung der natürlichen Lackmusmolke veranlaßte Seitz, ein künstliches Ersatzpräparat zu suchen. Die Zusammensetzung der gefundenen Nährlösung ist folgende:

- 20 g Milchzucker,
- 0,4 » Traubenzucker,
- 0,5 » Dinatriumphosphat,
- 1,0 » Ammoniumsulfat,
- 2,0 » Natriumzitrat (3 basisch),
- 5,0 » Kochsalz,
- 0,05 » Pepton. siccum Witte,
- 0,25 » Azolithmin Kahlbaum,
- 1000 » destilliertes Wasser.

Milchzucker dient als Säurequelle für Kolibazillen. Ein vollkommenes Ersatzpräparat für die in der Molke enthaltenen Spaltungsprodukte des Milchzuckers und des von Natur aus (wahrscheinlich) vorhandenen Kohlehydrats der Molke konnte Seitz nicht finden. Nach seinen Beobachtungen ist Dextrose das Kohlehydrat, welches am besten mit diesen Körpern der natürlichen Molke in bezug auf die Zersetzung übereinstimmt. Es ist wichtig, die angegebene Dextrosemenge (0,4 g) weder nach oben noch nach unten zu überschreiten, da in dem einen Falle der Umschlag bei Paratyphus B sich zu sehr verzögert, im anderen Falle, bei Typhus,

sehr leicht ein Umschlag in Blau eintritt. Dinatriumphosphat bietet in der Phosphorsäure den Bakterien einen Nährstoff und hat ferner Einfluß auf die Farbenreaktion, da die Farbumschläge dadurch zustande kommen, daß das zweibasische Salz bei Säure- oder Alkalibildung in ein ein- oder dreibasisches Salz umgewandelt wird. Als weiterer Nährstoff wird den Bakterien Ammoniumsulfat und zur Verbesserung der Wachstumsbedingungen Kochsalz und Pepton geboten. Zitronensäures Natrium dient als Alkaliquelle. Als Indikator wird das von Kahlbaum bezogene Azolithmin verwandt. Die Nährflüssigkeit soll nicht länger wie $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampftopf sterilisiert werden, um die Bildung einer störenden Menge von Spaltungsprodukten des Milchzuckers zu vermeiden. Die Flüssigkeit muß nach dem Sterilisieren eine bläulich violette Farbe haben.

Werden nicht zu geringe Mengen einer 24stündigen Bakterienkultur in 10 cem dieser Flüssigkeit geimpft und bei 37° gezüchtet, so verhält sich nach den Angaben von Seitz diese künstliche Nährflüssigkeit in gleicher Weise wie natürliche Lackmusmolke.

Die mitgeteilten günstigen Ergebnisse, welche mit dieser in vollkommener Gleichmäßigkeit leicht herstellbaren Nährflüssigkeit erzielt wurden, sowie der Umstand, daß das künstliche Präparat gegenüber der Kahlbaum'schen Lackmusmolke für den ausgedehnten Laboratoriumsbetrieb eines Untersuchungsamtes eine bedeutende Verbilligung (die Herstellungskosten eines Liters betragen etwa 35 Pf., während der Preis für ein Liter der von Kahlbaum gelieferten Lackmusmolke 2,50 M. beträgt) darstellt, veranlaßten uns, die praktische Brauchbarkeit der künstlichen Ersatzmolke durch Züchtungsversuche verschiedenster Bakterien der Koli-Typhusgruppe zu prüfen. Da die Versuche nur unter diesem Gesichtspunkte unternommen wurden, mußte von einer Nachprüfung und Erweiterung der biologisch interessanten Beobachtungen von Seitz über die Vorgänge, welche sich in der Lackmusmolke abspielen, abgesehen werden.

Es wurden die Nährlösung von Seitz, die von Kahlbaum bezogene natürliche Lackmusmolke nach Petruschky und eine weitere natürliche Lackmusmolke, über deren Herstellung

unten berichtet wird, mit einer größeren Zahl von Stämmen beimpft und auf Umschlag und Trübung miteinander verglichen. Diese zweite natürliche Lackmusmolke wurde auf Anraten des Herrn Ministerialrates Dieudonné zum Vergleich herangezogen.

Ein wichtiger Unterschied letzterer Molke gegenüber der Lackmusmolke Petruschky's besteht darin, daß die Eiweiße nicht durch Säuren, sondern durch ein Neutralsalz, Kalziumchlorid, bei Hitze ausgefällt werden. Die Herstellungskosten dieser Molke sind sehr gering. Die Molke wird nach Angaben von Prof. May, Vorsteher an der Kgl. Untersuchungsanstalt für Nahrungs- und Genußmittel in München, in der Art hergestellt, daß auf ein Liter möglichst frischer Milch 8 ccm einer Kalziumchloridlösung in Wasser vom spezifischen Gewichte 1,1375 gegeben werden. Nach Umschütteln wird der Kolben mit der Milch in kochendes Wasser gebracht. In dem Wasserbad läßt man die Milch eine halbe Stunde, um ein möglichst vollkommenes Ausfällen von Kasein und anderen Eiweißen zu erzielen. Nach Filtrieren ist die Molke ziemlich klar, mit Salpetersäure gibt sie eine sehr schwache Eiweißreaktion. Ihre Reaktion ist leicht sauer.

Die weitere Verarbeitung der Molke zu einer brauchbaren Nährflüssigkeit gestaltet sich nach mehrfachen Vorversuchen und Variationen in folgender Art:

Die warme Molke wird sofort nach der Filtration in der Menge so verdünnt, daß auf ein Teil Molke drei Teile destilliertes Wasser kommen. Auf 100 ccm dieser Mischung werden 6 ccm alkoholischer Lackmuslösung nach Kubel und Tiemann (Kahlbaum) gegeben. Zur Neutralisation wird eine 0,1 proz. Ammoniaklösung benutzt (etwa 2,5 ccm genügen, um den Neutralpunkt zu erhalten). Eine Neutralisierung mit Kali- oder Natronlauge ist nicht statthaft, da dann unlösliche Niederschläge entstehen. Andererseits verbessert das Ammoniak etwas die Wachstumsbedingungen der Bakterien. Als neutral wird die Molke angesehen, wenn der kolorimetrische Vergleich der Molke mit Kahlbaum'scher Lackmusmolke keinen Unterschied ergibt. Bei derartig frisch zubereiteter Molke genügt ein halbstündiges Sterilisieren

im Dampftopf, um Keimfreiheit zu erzielen. Die Molke soll nach dem Sterilisieren unveränderte Farbe haben und vollkommen klar bleiben.

Die Molken wurden mit je einer Öse einer 24stündigen Agarkultur beimpft und in den Brutschrank gebracht. Die Farbumschläge wurden 24 stündig beobachtet und mit der Farbe unbeimpfter, bei 37° und bei Zimmertemperatur aufbewahrter Nährmolken verglichen. Außerdem wurde auf die Dichtigkeit der durch das Bakterienwachstum erzeugten Trübung geachtet.

Bei den Paratyphus B-Stämmen wurde in einer Versuchsreihe die zeitliche Dauer bis zum Umschlag in Blau bestimmt. Neben einer größeren Zahl von Paratyphus B-Stämmen wurden mehrere Koli-, Typhus-, Enteritis Gärtner- und Dysenteriestämme (Y-Ruhr) zur Prüfung herangezogen. Tabelle I gibt die Zusammenstellung der Ergebnisse bei einer Zahl von Paratyphus B-, Typhus-, Koli-, Enteritis- und Dysenteriestämmen wieder. In der Tabelle I sind die Farben und die Trübung der verschiedenen Molken nach 24 stündigem und viermal 24 stündigem Verweilen im Brutschrank eingetragen.

Tabelle II gibt das Verhalten von Paratyphus B-Stämmen in den verschiedenen Molken in bezug auf Art und zeitliche Dauer des Farbumschlags wieder. Gleichzeitig ist nebeneinander ausgeführt, wann der Farbumschlag eintritt, wenn die Stämme dauernd bei 37° gehalten werden, und wenn sie 24 Stunden im Brutschrank und dann bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

Die Betrachtung der Tabelle ergibt, daß das Verhalten der einzelnen Molken bei Stämmen gleicher Art in bezug auf Farbumschlag und Wachstumsstärke vollkommen übereinstimmend ist.

Vergleicht man die drei Nährlösungen miteinander, so ergibt sich, daß die Stämme in den drei verschiedenen Nährflüssigkeiten sich ziemlich gleichmäßig verhalten, daß jedenfalls alle Molken in bezug auf das Verhalten der Stämme im Vergleich zu der als Standardlösung angenommenen Kahlbaum'schen Lackmusalbumolke alle gestellten Anforderungen erfüllen und im Prinzip gleich brauchbar sind.

(Fortsetzung des Textes S. 309.)

Tabelle I.

Bezeichnung	Lackmusmolke Kahlbaum				Lackmusmolke (Chlorkalziumfällung)				Künstliche Lackmusmolke (Seitz)			
	Wachstum		Farbe		Wachstum		Farbe		Wachstum		Farbe	
	nach 24 Stdn.	nach 4. 24 Stunden	nach 4. 24 Stunden	nach 24 Stunden	nach 24 Stdn.	nach 4. 24 Stunden	nach 4. 24 Stunden	nach 24 Stunden	nach 24 Stdn.	nach 4. 24 Stunden	nach 4. 24 Stunden	nach 24 Stunden
Koli- stämme.	leicht getrübt	leuchtend rot	leuchtend rot	leicht getrübt	stark getrübt (Bodensatz)	leicht getrübt	leuchtend rot	leuchtend rot	leicht getrübt	stark getrübt (Bodensatz)	rot	leuchtend rot
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Typhus- stämme.	klar	leicht getrübt	schwach Rot	rot	sehr leicht getrübt	klar	sehr schwach Rot	schwach Rot	klar	leicht getrübt	schwach Rot	rot
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Dysenterie	klar	schwach getrübt	schwach Rot	rötlich	klar	getrübt	schwach Rot	rot	klar	schwach getrübt	schwach Rot	rot
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»

Tabelle I (Fortsetzung).

N	Bezeichnung	Lackmusmolke Kahlbaum			Lackmusmolke (Chlorkalziumfällung)			Künstliche Lackmusmolke (Seitz)				
		Wachstum nach 24 4 · 24 Std.	Farbe nach 24 4 · 24 Stunden	Wachstum nach 24 4 · 24 Stunden	Farbe nach 24 4 · 24 Stunden	Wachstum nach 24 4 · 24 Std.	Farbe nach 24 4 · 24 Stunden	Wachstum nach 24 4 · 24 Stunden	Farbe nach 24 4 · 24 Stunden			
	Enteritis Gärtner											
1	Loi.	trüb	rötlich	tiefblau	getrübt	getrübt	rötlich	tiefblau	getrübt	sehr stark getrübt	rötlich	tiefblau
2	G.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	Para- typhus B.											
1	Ru	trüb	rötlich	tiefblau	trüb	trüb	rötlich	violettblau	trüb	sehr stark getrübt (Haut)	rötlich	tiefblau
2	De	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
3	Sp.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
4	Hö.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
5	Ki. Vater	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
6	Ki. Kind	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
7	Cz	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
8	Fu.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
9	Fi.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
10	Ma. Cacilie	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
11	Ma. Lorenz	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
12	Hu.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
13	Fe	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
14	Kie	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
15	Fr.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
16	Wa	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
17	Gr	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
18	Ba	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
19	Le	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
20	Sei	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»

Bacterium coli wächst in den drei Molken sehr stark und ruft in allen einen Farbumschlag in ein leuchtendes Rot hervor. Typhusbazillen wachsen in den Molken nur sehr wenig, eine starke Trübung findet sich in keiner Molke. Der Umschlag nach Rot erfolgt bei Typhus in weit geringerem Grade wie bei *Bact. coli*. Das Rot in den drei Molken hat nach Beimpfung mit Typhusbazillen stets einen leichten Stich ins Bläuliche. Dysenterie verhält sich in gleicher Weise wie Typhusbazillen, sie kommt zu keinem starken Wachstum und ruft einen violettroten Farbumschlag hervor.

Im Gegensatz zu Typhus und Dysenterie wachsen Paratyphus B- und Enteritis Gärtner-Bazillen in den drei Molken äußerst üppig unter Bildung eines dicken Häutchens. 24 Stunden nach Beimpfung zeigen alle Stämme einen leichten Umschlag nach Rot, wie er auch bei Typhus und Dysenterie auftritt, 4×24 Stunden nach Beimpfung ist bei allen Stämmen ein Umschlag nach Blau eingetreten. In der Kahlbaum'schen Lackmusmolke und der künstlichen Molke nach Seitz zeigen die Kulturen ein sattes Blau, während in der Chlorkalziummolke der Umschlag nicht so scharf ist und mehr eine violettblaue Farbe hat.

Tabelle II gibt eine andere Versuchsreihe mit einer größeren Zahl von Paratyphus B-Bazillen und neu hergestellten Nährböden wieder. Aus der Tabelle ist im Vergleiche zur Tabelle I zu entnehmen, daß alle Nährböden bei sorgfältig gleichmäßiger Herstellung gute Resultate geben. Weiterhin weist die Tabelle darauf hin, daß die Kulturen, im Brutschrank aufbewahrt, etwa 24 Stunden früher nach Blau umschlagen, während bei den 24 Stunden bei 37° und dann im Zimmer gehaltenen Kulturen der Umschlag langsamer erfolgt.

Ein Vergleich der Stämme ergibt, daß der Umschlag durchschnittlich schon 2×24 Stunden nach Beimpfung beginnt, dann noch etwa weitere 2×24 Stunden braucht, um das leuchtende Blau eines vollkommenen Umschlags zu zeigen. Es treten aber bei einzelnen Stämmen zeitliche Differenzen für den Farbumschlag ein. Bei einzelnen Stämmen erfolgt ein Umschlag erst nach

(Fortsetzung des Textes S. 312.)

Tabelle II.

Nr.	Bezeichnung des Stammes	Lackmusmolke Kahlbaum																		
		dauernd bei 37°							24 Std. bei 37°, dann Zimmer							Lackmus- dauernd bei				
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	Ru.	UR	R	R	R	V	B	—	UR	R	R	R	V	B	—	UR	V	V	V	V
2	De.	»	B	B	B	B	»	—	»	B	B	B	B	B	—	»	B	B	B	B
3	Sp.	V	»	»	»	»	»	—	V	»	»	»	»	»	—	V	V	V	V	V
4	Hö.	UR	R	R	R	V	»	—	UR	R	R	R	R	V	B	»	»	»	»	»
5	Ki. Vater	V	B	B	B	B	»	—	V	B	B	B	B	B	—	»	»	»	»	»
6	Ki. Kind	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
7	Cz.	UR	»	»	»	»	»	—	UR	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
8	Fu.	»	»	»	»	»	»	—	V	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
9	Fi.	»	R	R	R	V	»	—	UR	R	R	R	R	V	B	»	»	»	»	»
10	Ma. Cäcilie	»	B	B	B	B	»	—	»	B	B	B	B	B	—	»	»	»	»	»
11	Ma. Lorenz	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
12	Hu.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
13	Fe.	V	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
14	Kie.	UR	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
15	Fr.	V	»	»	»	»	»	—	V	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
16	Wa.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
17	Gr.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
18	Ba.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
19	Le.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
20	Sei.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
21	We.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
22	Ke.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
23	Vo.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
24	Me.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
25	Wei.	»	»	»	»	»	»	—	UR	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
26	Mai.	»	»	»	»	»	»	—	V	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
27	Oh.	»	»	»	»	»	»	—	UR	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
28	Fle.	»	»	»	»	»	»	—	V	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
29	Mä.	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
30	Len.	»	»	»	»	»	»	—	UR	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
31	Stah.	»	R	V	»	»	»	—	»	»	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»
32	Dins.	UR	»	»	»	»	»	—	V	R	R	V	B	»	—	»	»	»	»	»
33	Jaguem.	»	B	B	»	»	»	—	UR	R	R	V	B	»	—	»	»	»	»	»
34	Do.	»	R	V	»	»	»	—	»	V	B	B	B	»	—	»	»	»	»	»
35	Kü.	V	B	B	»	»	»	—	V	B	»	»	»	»	—	»	»	»	»	»

Zeichenerklärung: UR = Umschlag nach Rot, R = Rot, B = Blau,

6 Tagen. Man wird daher mindestens diese Zeit abwarten müssen, um über das Verhalten von Stämmen, die auf Grund anderer kultureller oder serologischer Beobachtungen als Paratyphus-B-Stämme anzusprechen sind, in Lackmusmolke ein einwandfreies Urteil bilden zu können.

Auch diese Tabelle zeigt, daß der Umschlag bei der Chlor-kalziummolke nicht so scharf ausfällt wie bei den anderen Nährflüssigkeiten und hier mehr eine violettblaue Färbung zeigt. Diese Erscheinung ist wohl auf Ausfällung der Phosphorsäure bei Herstellung der Molke zurückzuführen.

Alle drei Nährlösungen erweisen sich, wenn sie mit allen Vorsichtsmaßregeln hergestellt werden, als brauchbar. Die künstliche Ersatzmolke nach Seitz erfüllt in jeder Beziehung die an eine Lackmusmolke zu stellenden Anforderungen. Sie darf daher im praktischen Betriebe als ein vollwertiger Ersatz natürlicher Lackmusmolke angesehen werden. Da aber die Herstellungskosten gering sind und eine vollkommene gleichmäßige Zusammensetzung gewährleistet wird, muß sie sogar den natürlichen Lackmusmolken vorgezogen werden und dürfte mit der Zeit diese vollkommen aus dem Laboratorium verdrängen.

Literatur.

1. Petruschky, Zentralblatt für Bakteriologie 1889, Bd. 6, S. 657.
2. Proskauer und Capoldi, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 23, S. 452.
3. Barsiekow, Wiener klin. Rundschau 1901, Nr. 44.
4. Seitz, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankh., Bd. 71, S. 405.

Die Unzuverlässigkeit der Agglutinationsreaktion bei der Diagnose der Paratyphus-B.-Bazillen.

Von
Dr. med. **W. Rimpau**,
II. Direktor der Anstalt.

(Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.)

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Juli 1912.)

Die bakteriologische Diagnose der Erreger der bazillären Darmkrankheiten Typhus, Paratyphus, Gärtner, Ruhr baut sich auf auf der Lehre von der Konstanz des morphologischen und biochemischen Verhaltens dieser Erreger und von der der Spezifität der Agglutination.

In der bakteriologischen Praxis wird man daher nur dann die Diagnose auf einen dieser Krankheitserreger stellen können, wenn der betreffende Stamm in seinem morphologischen, kulturellen Verhalten alle Eigentümlichkeiten desselben zeigt, und wenn er von einem hochwertigen Serum der betreffenden Gruppe hoch oder bis zur Titergrenze agglutiniert wird. Stämme, die in ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten einem der genannten Erreger völlig gleichen, aber von einem entsprechenden hochwertigen Serum nicht agglutiniert werden, können nicht diagnostiziert werden, und die Frage der Identität mit dem betreffenden Erreger muß offen gelassen werden.

Derartige Stämme kommen nun bei den oben genannten Krankheitserreger-Gruppen zweifellos vor.

Nicht nur im wissenschaftlichen Interesse liegt es, die Stellung dieser Stämme zu den Krankheitserregern zu klären und die Identität oder Nichtidentität nachzuweisen, sondern es ist dies auch von erheblicher praktischer Bedeutung für die Seuchenbekämpfung.

Es ist denkbar, daß trotz Fehlens des Nachweises einer Agglutinationsfähigkeit die Stämme der betreffenden Gruppe zuzurechnen sind. In diesem Falle würde man, wenn man die in Frage stehenden Stämme nicht als Krankheitserreger identifiziert, Fehldiagnosen stellen, die unter Umständen einer Verbreitung der Krankheit Vorschub leisten.

Stellt man aber die Diagnose auf den betreffenden Krankheitserreger, wenn der Nachweis der spezifischen Agglutination fehlt, und ist der betreffende Stamm tatsächlich nicht diesen Erregern zuzurechnen, dann kann man durch diese Fehldiagnose den Patienten und seine Umgebung empfindlich schädigen, da Bekämpfungsmaßnahmen auf Grund der bakteriologischen Diagnose ergriffen werden.

Das Vorkommen dieser Stämme in der Typhus-Paratyphus- und Ruhr-Gruppe ist verhältnismäßig wenig zusammenfassend bearbeitet. Es handelt sich bei den Angaben in der Literatur in der Regel nur um gelegentliche Beobachtungen. Systematische Untersuchungen in dieser Richtung fehlen fast gänzlich.

Über typhusähnliche Stämme hat zusammenhängend B a u m a n n ¹⁾ eine Veröffentlichung aus der Metzger Anstalt gebracht, doch fehlen hier leider jegliche Versuche, mit den typhusähnlichen Stämmen Seren herzustellen und mit diesen die serologischen Verhältnisse eingehend zu prüfen.

Über Befunde von Bazillen, die kulturell und morphologisch in die Ruhrgruppe gehören, mit den Seren der bekannten Ruhrerreger aber nicht agglutinierten, liegt eine Reihe von Einzelbeobachtungen und Untersuchungen vor. Die Beurteilung dieser Verhältnisse wird dadurch erschwert, daß, wie L e n t z ²⁾ angibt,

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 29.

2) Kolle-Wassermann, 1. Aufl., Ergänzungsbd. I, Dysenterie.

derartige nicht oder schlecht agglutinierende Stämme nach längerem Fortzüchten gut agglutinabel werden.

Eine größere Zahl von Einzelbeobachtungen über nicht agglutinierende Stämme findet sich in der Literatur über die Paratyphus-Gruppe.

Die Mitteilung der Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen ist wenig einheitlich, da zu den »paratyphusähnlichen« oder »dem Paratyphus nahestehenden« Bazillen bald diejenigen gerechnet werden, die alle kulturellen Merkmale der Paratyphusgruppe zeigten, bald diejenigen, die in einigen kulturellen Merkmalen (Indolbildung, Zuckervergärung) abwichen. So hat z. B. auch Hübener in der Monographie¹⁾ über »Paratyphus« als paratyphusähnliche Bakterien sowohl Bazillen, die dem Paratyphus kulturell gleichen, als auch, die es nicht tun, angeführt.

Im Interesse einer klaren Übersichtlichkeit sollte man scharf trennen zwischen solchen durch Seren der Paratyphusgruppe nicht agglutinierbare Bazillen, die kulturell sich wie die Bazillen der Paratyphusgruppe (Pa. B., Gärtner) verhalten, und die man als »p a r a t y p h u s v e r w a n d t« bezeichnen könnte, und solchen, die in vielen Kulturmerkmalen der Paratyphusgruppe ähneln, in anderen aber sich unterscheiden, und die man »p a r a t y p h u s ä h n l i c h« nennen könnte.

Wichtig ist ferner, daß möglichste Einheitlichkeit in der Anwendung der Nährböden besteht. Zur Diagnosenstellung muß m. E. unbedingt herangezogen werden: Agar, Gelatine, Bouillon, Traubenzuckerbouillon, Lackmusmolke bzw. Seitzsche Nährflüssigkeit, Löffler I u. II, Drigalski-Conradi oder Endo, Hensch-Mannit-Malton-Saccharose und Pepton zum Indolnachweis.

Im Laufe der Jahre bin ich von der Anwendung der Milch gänzlich abgekommen, da nach meinen Erfahrungen die Resultate recht unzuverlässig sind und die charakteristische Aufhellung so spät eintritt, daß sie praktisch für die Diagnose nicht mehr in Frage kommt.

1) Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektion. Fischer, Jena 1910.

Der serologische Nachweis, daß es sich wirklich um inagglutinable Stämme der Paratyphusgruppe gehandelt hat, ist von den Autoren, entsprechend der Einteilung der Paratyphusgruppe, durch Agglutination mit Pa.-B. u. Gärtner-Seren erbracht. Bei fast allen Autoren fehlt hierbei aber die Angabe über die Höhe der Titer der Seren und Herkunft der zur Herstellung der Seren benutzten Stämme und meistens ist nicht ersichtlich, ob mit mehreren Pa.-B. bzw. Gärtner-Seren geprüft ist oder nur mit einem.

Das Serum gehört zu dem wichtigsten Handwerkzeug bei der Diagnosenstellung, und seine Eigenschaften finden bei den Schilderungen der Untersuchungen oft am wenigsten eine genaue Beschreibung. Selbst bei so umfangreichen und sorgfältig beschriebenen Untersuchungen, wie sie A u m a n ¹⁾ in seiner Arbeit »Über das Vorkommen der Paratyphusbazillen usw.«, die für die Ubiquitätsfrage der Bazillen der Paratyphusgruppe wichtig ist, vorlegt, erfahren wir von dem Autor über seine angewandten Seren nur, daß sie hochwertig seien.

Und gerade bei der Paratyphusgruppe, die so überaus komplizierte Agglutinationsverhältnisse hat, ist zur späteren kritischen Bearbeitung und Verwertung der Ergebnisse einer Arbeit die genaue Angabe über die benutzten Seren unerlässlich.

Paratyphusverwandte Bazillen, d. h. also solche, die morphologisch und kulturell mit den Vertretern der Paratyphusgruppe übereinstimmen, bei der Prüfung mit Pa.-B. und Gärtner-Seren aber inagglutinabel sind, wurden von verschiedenen Untersuchern in den Ausscheidungen der Menschen und außerhalb des Menschen, ohne Zusammenhang mit ihm, gefunden.

In den Ausscheidungen der Menschen wiesen sie u. a. H ü b e n e r und V i e r e c k ²⁾, ferner M a r m a n n ³⁾ nach. Dieser fand in neun Stühlen, die aus der Umgebung Typhuskranker eingesandt wurden, derartige Bazillen, die von einem hochwertigen Pa. B.-Serum nicht, von einem hochwertigen Hogcholeraserum nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{2000}$ agglutiniert wurden.

1) Zentralblatt für Bakteriologie, Org.-Bd. 57, 1911.

2) Hübener, Fleischvergiftungen usw., Jena 1910.

3) Hygienische Rundschau 1908, Nr. 17.

Auch A u m a n ¹⁾ scheint nicht agglutinierende, kulturell zur Paratyphusgruppe gehörende Stämme bei seinen Untersuchungen, die sich auf die Ausscheidungen der Menschen und auf die nähere Umgebung des Menschen erstreckten (Fleisch, Gemüse, Eis usw.), gefunden zu haben, doch werden genauere Angaben hierüber nicht gemacht.

Hübener ist fast der einzige, der angibt, daß er mit diesen aus den Ausscheidungen von Menschen und Tieren (Schweinen) gezüchteten Bazillen ein Serum hergestellt habe, und daß dieses Serum andere, sichere Angehörige der Paratyphusgruppe nicht agglutinierte.

Außerhalb des Menschen sind außer von den genannten Autoren noch von U h l e n h u t h und seinen Mitarbeitern²⁾ derartige paratyphusverwandte Stämme nachgewiesen und als Paratyphus C bezeichnet worden.

Nicht hierher gehören aber die Befunde von S c h m i d t ³⁾ und H u b e r ⁴⁾, von denen jener bei Schweinen, dieser bei Pferden Stämme nachwies, die kulturell der Paratyphusgruppe ähnlich waren, sich aber durch Bildung von Indol von ihr unterschieden und nicht von Seren der Paratyphusgruppe agglutiniert wurden. Diese Stämme wären als paratyphusähnlich zu bezeichnen.

Wir sehen also, wie nicht agglutinierende, zur Paratyphusgruppe gehörenden Bazillen von verschiedenen Untersuchern gelegentlich gefunden sind und sicherlich Schwierigkeiten bei der Diagnosenstellung gemacht haben.

Eine eingehende Bearbeitung haben die Agglutinationsverhältnisse in der Paratyphusgruppe durch die bekannten Untersuchungen von S o b e r n h e i m und S e l i g m a n n ⁵⁾ gefunden.

Ein Ergebnis, das uns hier interessiert, ist, daß einzelne Pa.-B.-Seren Pa.-B.-Stämme sehr verschieden beeinflussen, insbesondere daß es sichere Pa.-B.- oder Gärtner-Stämme gibt, die von Seren, die mit sicheren Pa.-B.- oder Gärtnerstämmen hergestellt

1) l. c.

2) Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 29.

3) Münchener med. Wochenschr. 1911, Nr. 11.

4) Zentralbl. f. Bakt. Bd. 56 1910.

5) Zeitschrift f. Imm.-Forschung Bd. 6 1910.

sind, nicht oder schwach beeinflußt werden, während andere Pa.-B.- bzw. Gärtner-Seren sie hoch agglutinieren.

Diese Ergebnisse waren in der Hauptsache an älteren, schon länger fortgezüchteten Laboratoriumsstämmen erhoben. Bewahrteten sie sich auch an Stämmen, die frisch gezüchtet waren, und waren sie nicht selten nachweisbar, so war die Zuverlässigkeit der Agglutinationsprobe für die Praxis auch bei der Paratyphusgruppe stark erschüttert.

Eine Nachprüfung der Befunde von *Sobernheim* und *Seligmann* fand durch *Stromberg*¹⁾ statt. Wenn in dieser Arbeit sich auch nicht in allen Punkten Übereinstimmung mit den Beobachtungen von *Sobernheim* und *Seligmann* ergab, so war sie doch vorhanden in den oben angeführten Ergebnissen.

Aus den von *Stromberg* angegebenen Tabellen interessieren uns hier die Agglutinationsverhältnisse, wie sie der Stamm »Bock« zeigt.

Er ist einem sicheren Pa.-B.-Serum »Achard« gegenüber inagglutinabel; das mit ihm hergestellte Serum agglutiniert aber den Stamm »Achard« und andere Pa.-B.-Stämme mittelhoch.

Auch die Kulturen, die *Stromberg* zu seinen Versuchen verwandte, waren Sammlungskulturen und offenbar schon längere Zeit fortgezüchtet. Es konnte hier also auf Grund der Nachweise von *Sobernheim* und *Seligmann*, daß Gärtner- u. Pa.-B.-Stämme in ihrem agglutininbindenden Verhalten sehr wechseln können, an derartige Veränderungen, die mit dem Alter der Kultur im Zusammenhang standen, gedacht werden.

Angaben von *Schern*²⁾ und *van Loghem*³⁾, die sich auf frisch gezüchtete Pa.-B.-Stämme beziehen, lehren aber, daß das Alter der Stämme für ihre Inagglutinabilität mit bestimmten Seren nicht ausschlaggebend zu sein braucht. *Schern* züchtete aus einer Fleischprobe einen Stamm, der sich kulturell wie Paratyphus verhielt, mit den angewandten Gärtner- und Pa.-B.-Seren

1) Zentralbl. f. Bakt. etc. Orig.-Bd. 58, 1911.

2) Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Bd. 61, 1911.

3) Zentralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 64.

aber nicht agglutinierte. Das mit diesem Fleischstamm hergestellte Serum beeinflußte aber stark einen sicheren, aus einem paratyphuskranken Menschen gezüchteten Pa.-B.-Stamm, und zwar den, dessen zugehöriges agglutinierendes Serum den Fleischstamm nicht zu beeinflussen vermochte.

Auch die Stämme, die v a n L o g h e m in Sumatra aus Krankheitsfällen züchtete, ließen sich mit dem angewandten agglutinierenden Serum nicht identifizieren. Das mit diesen Stämmen hergestellte Serum beeinflußte aber eine Reihe von Pa.-B.-Stämmen und zwar, wie er angibt, europäischer Herkunft.

Zu den Untersuchungen, über deren Ergebnis im folgenden berichtet werden soll, wurden 34 als Paratyphus-B.- bzw. als »paratyphusverwandt« diagnostizierte und in der Hauptsache frisch gezüchtete Stämme, und sechs agglutinierende Pa.-B.-Sera herangezogen. Unter den Stämmen befanden sich solche, deren Identifizierung infolge ihrer schlechten oder fehlenden Agglutinabilität Schwierigkeiten gemacht hatte oder überhaupt unmöglich gewesen war. Es war die Absicht, diese Stämme durch Prüfung mit mehreren Seren noch nachträglich einwandfrei zu identifizieren, und durch gleichzeitige Prüfung einer größeren Zahl von Pa.-B.-Stämmen Unterlagen zu gewinnen für die Beurteilung des Wertes der Agglutinationsreaktion bei der Diagnose der Pa.-B.-Bazillen für die Praxis. Da die Bazillen der Pa.-B.-Gruppe erheblich häufiger vorkommen als die der Gärtnergruppe, wurden die Untersuchungen nur auf Vertreter der Pa.-B.-Gruppe beschränkt. Sämtliche Stämme sind zweimal mit zwei verschiedenen Gärtnerseren geprüft, und es zeigte kein Stamm mit diesen Seren eine Agglutination in einer höheren Serumverdünnung als $\frac{1}{500}$.

Die Untersuchungen sind die Fortsetzung der Untersuchungen¹⁾, die von mir im Kaiserl. Ges.-Amt begonnen wurden. Ich kam seinerzeit in Übereinstimmung mit anderen Autoren zu dem Ergebnis, daß zur Beurteilung, ob ein Stamm der Pa.-B.-Gruppe schwer oder nicht agglutinabel sei, die Prüfung mit einem Serum nicht genüge, sondern dazu die Verwendung mehrere Seren, und zwar solcher, die mit verschiedenen Stämmen hergestellt seien, notwendig sei.

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 38, 1911.

Ich hatte seinerzeit drei Pa.-B.-Stämme gefunden, die mit einem hochwertigen Hogcholera-Serum ($1/20000$) nur gering i. d. V. ($1/2000$ — $1/4000$) agglutiniert wurden, mit anderen Pa.-B.-Seren aber bis zur Titergrenze.

Bei den Untersuchungen des Materials der Münchner Anstalt stießen wir nun auf Stämme, die als paratyphusverwandt anzusprechen waren, da sie sich kulturell und morphologisch als Paratyphus erwiesen, mit den angewandten Pa.-B.- und Gärtner-Seren aber nicht oder nur sehr gering agglutinierten. Da diese Stämme in den Ausleerungen Erkrankter gefunden wurden, hatte ihre Identifizierung erhebliches praktisches Interesse.

Es waren folgende Stämme:

1. Stamm Sch. Nr. 28.

Patient zwei Monate alt. Einige Tage krank. Klinische Diagnose: Dyspepsie. Temperatur: $39,8^{\circ}$ C. Ernährung: Eiweißmilch. Stuhl: stark schleimig, gelb mit grünen Fetzen, schwach saure Reaktion.

Mikroskopisch: Auffallend wenig Bakterien, gram-negative Diplokokken mit und ohne Kapsel, gram-negative Stäbchen, vereinzelte gram-positive Diplokokken, zahlreiche Leukozyten.

Kultur: $1/4$ der auf Conradi-Drigalski-Nährboden gewachsenen Kolonien, blau, paratyphusähnlich. Probeagglutination mit Pa.-B.-Serum R (Titer $1/5000$) und Gärtner Serum (Titer $1/10000$) i. d. V. 1 : 100 negativ. Die isolierten Stämme verhalten sich morphologisch und kulturell wie Paratyphus. Agglutination nach 2 h mit obigen Seren i. d. V. 1 : 100, mit Serum K. G. A. ($1/20000$) i. V. $1/2000$ — $1/3000$ positiv.

2. Stamm S. Nr. 21, gezüchtet aus Stuhl eines Erwachsenen mit länger dauerndem Durchfall. Der Stamm wurde mir von Herrn Dr. Mandelbaum zur Verfügung gestellt. Kulturell und morphologisch wie Paratyphus, Agglutination nach 2 h mit Paratyphus-B.-Serum R und Gärtner-Serum i. d. V. 1 : 100 negativ, mit Serum K. G. A. (Titer $1/20000$) i. d. V. $1/2000$ positiv.

3. und 4. Stamm K. (Kind) Nr. 6 und K. (Vater) Nr. 5.

Stamm Nr. 6 wurde aus dem Stuhl eines Kindes K. gezüchtet, das in der Kgl. Universitäts-Kinderklinik München behandelt

wurde, da es auf Milchzufuhr stets blutig-schleimige Stühle bekam. In zwei blutig-schleimigen Stühlen (Ruhrstuhl) ließen sich nur ganz vereinzelte Bazillen nachweisen, die zur Paratyphusgruppe gehörten und nach 2 h mit dem Pa.-B.-Serum R ($1/5000$) nicht, mit Hogcholeraserum K. G. A. ($1/20000$) i. d. V. $1/2000$ agglutinierten.

Frühere Untersuchungen hatten mir gezeigt, daß in der Umgebung darmkranker Kinder nicht selten gleichzeitig vorhandene oder abgelaufene Darmerkrankungen festzustellen sind. Auf meine Bitte hat Herr Dr. Illmer, Assistent der Kinderklinik, Erhebungen bei den Eltern des Kindes angestellt, die folgendes Interessante ergaben. Der Vater des Kindes, Telegraphenbaurbeiter in München, hat angeblich seit seiner frühesten Jugend immer an gelegentlichen Durchfällen gelitten. Die Stühle sind oft ganz dünnflüssig, oft wieder breiig, doch „nie so, wie bei anderen Menschen.“ Er fühlt sich ganz wohl, und war nie in ärztlicher Behandlung.

In seinem Stuhl stellte ich nun Bazillen (Stamm Nr. 5) in sehr geringer Zahl fest, die sich kulturell und, was das weitere Interessante ist, agglutinatorisch wie die Bazillen verhielten, die ich aus dem blutig-schleimigen Stuhl des Kindes gezüchtet hatte. Da das Kind in der Klinik, der Vater zu Hause war, konnte eine Verwechslung bei der Einsendung ausgeschlossen werden.

Es hatte also bei diesen vier Stämmen ein Pa.-B.-Serum mit dem Agglutinationstiter 1 : 5000, das sich anderen frisch gezüchteten Pa.-B.-Stämmen gegenüber wirksam erwies, bei 2 h Beobachtungszeit gänzlich versagt und ein Hogcholeraserum ($1/20000$) hatte die Stämme nur in so schwachen Verdünnungen agglutiniert, daß eine Diagnose mit Sicherheit nicht zu stellen war.

Auf Grund der früher von mir gemachten Erfahrungen wurde die Diagnose Paratyphus-B.-Bazillen bei den Stämmen 5 und 6 trotz der mangelhaften Agglutinabilität mit den benutzten Seren gestellt, eine Diagnose der Stämme 21 und 28 wurde dagegen seinerzeit nicht abgegeben. Die Aufgabe war nun, diese Stämme, wenn möglich, einwandfrei zu identifizieren.

Zum Vergleich mit diesen Stämmen und zum Studium der Agglutinationsverhältnisse der Pa.-B.-Gruppe überhaupt, wurden 30 andere Stämme der Pa.-B.-Gruppe herangezogen.

Zur Beurteilung der Ergebnisse dieser Untersuchungen ist es wichtig zu wissen, daß unter den vorhandenen Pa.-B.-Stämmen der Anstalt eine Auswahl getroffen wurde und teils solche zur Untersuchung gewählt wurden, deren gute Agglutinabilität bekannt war, aber auch absichtlich außer den vier oben beschriebenen noch weitere solche, die als inagglutinabel bzw. schwer agglutinabel auf Grund der Serumprüfung galten.

Alle Stämme waren bis auf einen aus menschlichem Stuhl bzw. Urin gezüchtet¹⁾. Dieser eine (Nr. 35) stammte aus dem Fleisch eines schweinepestkranken Schweines, dessen Genuß in einer Familie Fleischvergiftungserkrankungen hervorgerufen hatte (Stamm Nr. 44). Die Träger der übrigen Stämme waren teils erkrankt, teils gesund gewesen. Die Erkrankten hatten Erscheinungen des Typhus, der Fleischvergiftung, Ruhr, der typischen Cholera und leichter Darmstörungen gezeigt. Ein Stamm (Nr. 15) war aus dem Stuhl eines Typhuskranken, der auch Typhusbazillen enthielt, gezüchtet. Bei einigen Stämmen hatte es sich offenbar um alimentäre Ausscheidung gehandelt (z. B. Nr. 1, 18, 29—33).

Es waren Stämme dabei, die in Irrenanstalten bei Umgebungsuntersuchungen anlässlich von Typhuserkrankungen gefunden wurden und, deren Ausscheidung der ganzen Sachlage nach als eine alimentäre aufzufassen war.

Die meisten Stämme waren innerhalb des letzten Jahres aus Material, das aus dem Anstaltsgebiet München eingesandt war (Oberbayern, Niederbayern, Schwaben), gezüchtet, im Eisschrank aufbewahrt und erst wenige Male auf Agar übergeimpft worden, zwei Stämme waren von mir vor 2 bis 4 Jahren im Elsaß bei Personen des Anstaltsgebietes Hagenau gefunden worden.

Über die Sera ist folgendes zu sagen.

1. Serum I, Kaninchenserum, Titer 4—6000, ca. $\frac{3}{4}$ Jahr alt; hergestellt mit Paratyphus-B.-Stamm R (Nr. 1), der aus Stuhl eines gesunden, gelegentlichen Ausscheiders im Elsaß gezüchtet war.

1) Die Reinzüchtung eines Teiles der Münchener Stämme erfolgte durch die Herren Dr. Dr. Gareis (†), v. Angerer und Kaß.

2. Serum II, Eselserum, Titer 20000; mit Hogcholera-Stamm im Kaiserl. Ges.-Amt hergestellt.

3. Serum III, Kaninchentrockenserum, Titer 8000; hergestellt im Institut für Infektionskrankheiten »Robert Koch«.

4. Serum IV, Kaninchenserum, Titer 8000; frisch hergestellt mit Stamm Sch Nr. 28 (s. S. 320).

5. Serum V wie Serum IV, hergestellt mit Stamm S. Nr. 21 (s. S. 320).

6. Serum VI wie Serum Nr. IV, hergestellt mit Stamm Sp. Nr. 3, gezüchtet aus Stuhl eines unter Ruhrerscheinungen in München erkrankten Erwachsenen.

Serum I war mit lebenden, Serum IV, V, VI mit abgetöteten Kulturen hergestellt. Die Seren waren nach der Entnahme mit Karbol versetzt und 2 bis 3 Wochen später geprüft. Serum V ist einmal frisch ohne Karbolzusatz, einmal nach 2 Wochen mit Karbolzusatz geprüft, ohne Unterschiede in der Wirkung zu zeigen.

Von der Anwendung lebender Kulturen zur Immunisierung wurde abgesehen, da die ausführlichen Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann erwiesen hatten, daß bei der Herstellung von agglutinierenden Pa.-B.-Seren es wenig darauf ankommt, ob lebende oder abgetötete Kulturen angewandt werden.

Das Serum I wurde in der Anstalt zur Diagnosenstellung eine Zeitlang benützt neben dem Serum II.

Die Verwendung der schlecht agglutinablen Stämme 21 und 28 zur Herstellung der Sera IV und V ergibt sich aus dem oben Gesagten über den Zweck der Untersuchung; Stamm 3 wurde zur Herstellung des Serums VI benutzt, da er mit Serum I als gut agglutinabel sich erwiesen hatte, und durch dieses Serum als Paratyphus-B.-Stamm identifiziert war, und da er von einem unter Ruhrerscheinungen erkrankten Erwachsenen des Anstaltsgebietes München stammte. Es standen somit Sera zur Verfügung, deren zugehörige Stämme, sowohl was die örtliche Herkunft als auch was die klinischen Erscheinungen der infizierten Personen betraf, sehr verschieden waren. Durch die Heranziehung des Serums II, Hogcholeraserum, hatte auch neben den aus Menschen gezüchteten Stämmen ein solcher tierischer Herkunft zum Vergleich als

Serumstamm Berücksichtigung gefunden. Auf Einzelheiten der Versuchsanordnung und der Ergebnisse soll hier nicht näher eingegangen werden, darüber wird Herr W y m e r , Medizinalpraktikant, an anderer Stelle berichten.

Angeführt sei hier, daß die Ansetzung der Agglutinationsversuche nach dem »Kolle«schen Verfahren erfolgte, daß die Resultate bei schwacher Lupenvergrößerung ev. unter mikroskopischer Kontrolle abgelesen wurden.

Wichtig ist, daß die Untersuchungen nicht nach 2 bis 4 h, sondern nach 18 bis 24 h abgeschlossen wurden. Die Proben standen nach 2 h Aufenthalt im Brutschrank über Nacht bei Zimmertemperatur.

Fehlerquellen, die sich aus nicht zu kontrollierenden Zufälligkeiten (z. B. Nährboden, Veränderung der Sera) ergeben konnten, wurden dadurch nach Möglichkeit für die endgültige Beurteilung ausgeglichen, daß die Untersuchungen mehrfach vorgenommen wurden, und daß an einem Untersuchungstage möglichst alle 34 Stämme mit mindestens 2 Seren zu gleicher Zeit geprüft wurden. So ist Serum I und IV zweimal, Serum V und VI dreimal, Serum II bis zu sechsmal und Serum III mit einem Teil der Stämme zweimal, mit einem kleinen Teil desselben einmal geprüft.

Außer den Agglutinationen mit zwei Gärtnerseren, diente auch die Agglutination mit Normalkaninchenserum und einem Cholera-Eselerum als Kontrolle. Diese Prüfungen fielen negativ aus. Es kam gelegentlich vor, daß der Agglutinationstiter eines Serums einem bestimmten Stamm gegenüber nach 2 h und 24 h bei einer Untersuchung ein anderer war, als bei Wiederholung der Untersuchung. Bei einer Beobachtungszeit von 2 h waren doch die Differenzen gelegentlich so groß, daß die Zugehörigkeit des betreffenden Stammes zur Pa.-B.-Gruppe bei der einen Untersuchung bejaht werden mußte, bei der anderen zweifelhaft war. In der Regel handelte es sich um eine Verlangsamung des Ablaufes der Reaktion, denn nach 18 bis 24 h waren die Unterschiede ausgeglichen und stimmten die Endtiter ziemlich genau überein.

Die endgültige Beurteilung der einzelnen Agglutinationsergebnisse ist nun in der vorliegenden Zusammenstellung (Tab. I)

in der Weise vorgenommen, daß für jeden Stamm und jedes Serum der Durchschnitt der erreichten Endtiter genommen wurde, sowohl nach 2 bis 4 h als nach 18 bis 24 h Beobachtungszeit.

In Tabelle II bis V sind für die einzelnen Stämme und Seren die Werte der Tabelle I graphisch dargestellt. Die Verbindung der für jedes Serum und jeden Stamm eingetragenen Titer ergibt die »Titerlinie« der einzelnen Seren. Tabelle II und III geben die Titerlinien der Seren I, II, III bezügl. IV, V, VI nach 2 bis 4 h, Tabelle IV und V nach 18 bis 24 h Beobachtungszeit wieder.

Läßt sich nun der Nachweis erbringen, daß die vorläufig als paratyphusverwandten diagnostizierten Stämme echte Pa.-B.-Stämme sind?

Der Stamm Nr. 21 ist deswegen ein echter Pa.-B.-Stamm, da er mit den sicheren, hochwertigen Pa.-B.-Seren III und VI schon nach 2 bis 4 h bis fast zur Titergrenze agglutiniert und weil das mit ihm hergestellte Serum, Serum V, sichere Pa.-B.-Stämme (z. B. Nr. 8, 19, 38, 39) nach 2 bis 4 h bzw. (z. B. Nr. 2, 7, 8, 10, 11, 14) nach 24 h hoch bzw. bis zur Titergrenze agglutiniert.

In gleicher Weise läßt sich für den Stamm 28 durch sein Verhalten den Seren V und VI gegenüber und das Verhalten des mit ihm hergestellten Serums IV sicheren Pa.-B.-Stämmen gegenüber der Beweis seiner Zugehörigkeit zur Pa.-B.-Gruppe erbringen.

Mit den Stämmen Nr. 5 und 6 sind Seren nicht hergestellt. Der Beweis ihrer Zugehörigkeit zur Paratyphus-B.-Gruppe ist nur durch den vorhandenen Nachweis der starken Agglutination durch die Seren V und VI zu führen. Das Serum V beeinflusste beide Stämme schnell und stark, das Serum VI nur langsam, aber innerhalb 24 h auch bis zur Titerhöhe.

Es ist hiermit der Beweis erbracht, daß Stämme, die bei Benutzung von ein bis zwei Seren nur als »paratyphus verwandt« anzusehen waren, bei Anwendung mehrerer Seren als Paratyphus-B.-Bazillen einwandfrei sich feststellen lassen.

Die Schwierigkeit, die gelegentlich eine solche Identifizierung machen kann, zeigt der Umstand, daß der Stamm Nr. 5 bei 2 h

(Fortsetzung des Textes S. 328.)

Tabelle I.

Durchschnittliche Agglutinationshöhe von 34 Paratyphus-B.-Stämmen gegenüber folgenden 6 Paratyphus-B.-Serum.

Nr. der Stämme	Serum I R (Stamm Nr. 1)	Serum II K.G.A.	Serum III Inst. f. Inf.	Serum IV Sch (Stamm Nr. 28)	Serum V S (Stamm Nr. 21)	Serum VI Sp (Stamm Nr. 3)
1	4000 ¹⁾ (6000) ²⁾	10 000 (7000)	8000 (8000)	2000 (3000)	100 (1000)	5000 (7000)
2	4000 (5000)	10 000(15000)	8000 (8000)	1500 (5000)	3000 (4000)	7000 (8000)
3	500 (3000)	18 000(20000)	6000 (6000)	1000 (3000)	1500 (1500)	8000 (12000)
4	4000 (5000)	15 000(20000)	4000 (8000)	2000 (5000)	100 (100)	8000 (8000)
5	100 (100)	5 000 (5000)	500 (1000)	1000 (2000)	6000 (6000)	3000 (6000)
6	100 (100)	3 000 (6000)	1000 (4000)	500 (1000)	8000 (8000)	5000 (8000)
7	500 (3000)	8 000 (15000)	3000 (6000)	6000 (7000)	2000 (4000)	6000 (7000)
8	4000 (4000)	8 000(15000)	6000 (8000)	100 (1000)	4000 (4000)	4000 (8000)
9	500 (2000)	15 000(20000)	1000 (8000)	1000 (2000)	500 (2000)	2000 (4000)
10	100 (1000)	15 000(20000)	1000 (6000)	3000 (6000)	500 (4000)	4000 (8000)
11	100 (1000)	10 000(20000)	3000 (6000)	3000 (7000)	3000 (4000)	2000 (5000)
12	100 (1000)	15 000(20000)	1000 (6000)	1000 (5000)	1500 (2500)	4000 (9000)
14	100 (1000)	10 000(15000)	3000 (4000)	5000 (8000)	3000 (5000)	4000 (5000)
15	4000 (5000)	15 000(20000)	4000 (8000)	2500 (4000)	2000 (3000)	4000 (5000)
16	2000 (5000)	8 000(15000)	4000 (6000)	1000 (1000)	3000 (3000)	5000 (6000)
17	2000 (2000)	8 000(17000)	3000 (6000)	8000 (8000)	2000 (3000)	3000 (6000)
18	100 (1000)	10 000(20000)	3000 (6000)	4000 (5000)	2000 (5000)	2500 (3000)
19	3000 (3000)	15 000(18000)	8000 (8000)	5000 (7000)	4000 (4000)	6000 (8000)
20	100 (1000)	12 000(16000)	5000 (8000)	100 (1000)	100 (3000)	2000 (4000)
21	100 (100)	2 000(10000)	6000 (6000)	1000 (2000)	8000 (8000)	6000 (6000)
28	100 (100)	3 000 (15000)	2000 (2000)	8000 (8000)	4000 (4000)	5000 (6000)
29	100 (100)	20 000(20000)	8000 (8000)	1000 (4000)	1000 (2000)	3000 (7000)
30	1000 (3000)	20 000(20000)	8000 (8000)	2000 (4000)	1000 (2500)	4000 (8000)
31	100 (1000)	20 000(20000)	8000 (8000)	1000 (4000)	1000 (2500)	4000 (8000)
32	500 (1000)	20 000(20000)	5000 (8000)	3000 (5000)	1000 (2000)	3000 (8000)
33	100 (500)	20 000(20000)	1000 (5000)	1000 (2000)	1000 (2000)	3500 (8000)
35	1000 (1000)	20 000(20000)	8000 (8000)	2000 (5000)	1000 (2500)	2000 (8000)
36	1000 (1000)	20 000(20000)	8000 (8000)	8000 (10000)	1000 (4000)	4000 (6000)
37	1000 (1000)	20 000(20000)	8000 (8000)	2000 (8000)	3000 (4000)	2000 (4000)
38	2000 (2000)	20 000(20000)	8000 (8000)	1000 (1000)	8000 (8000)	7000 (7000)
39	4000 (6000)	10 000(20000)	8000 (8000)	100 (500)	8000 (8000)	6000 (6000)
40	500 (8000)	20 000(20000)	8000 (8000)	2000 (5000)	2000 (4000)	5000 (5000)
41	1000 (2000)	20 000(20000)	8000 (8000)	3000 (7000)	1000 (4000)	3000 (4000)
44	100 (1000)	20 000(20000)	5000 (8000)	500 (5000)	1000 (8000)	4000 (8000)

¹⁾ Die nicht eingeklammerte Zahl = Agglutinationshöhe nach 2—4-stündiger Beobachtungszeit. — ²⁾ Die eingeklammerte Zahl = Agglutinationshöhe nach 18—24-stündiger Beobachtungszeit.

Tabelle II. Beobachtungszeit 2—4 Stunden.

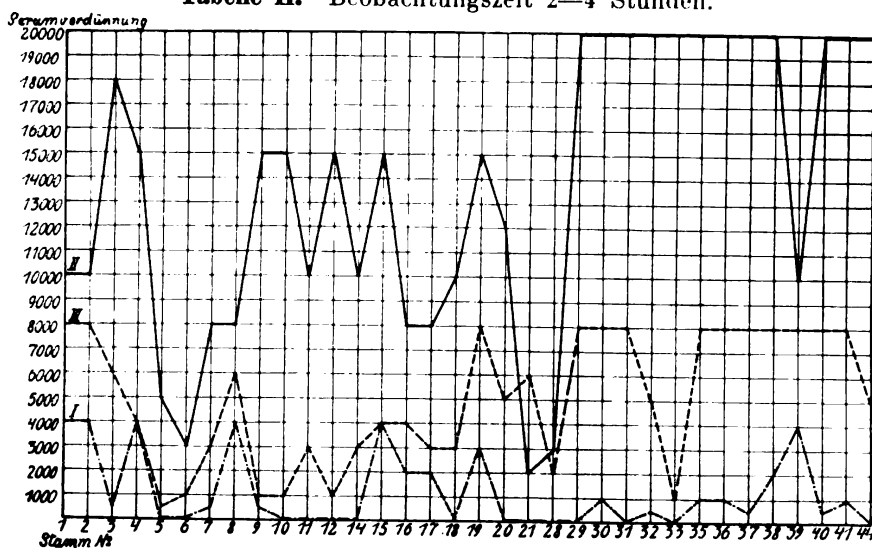


Tabelle III. Beobachtungszeit 2—4 Stunden.

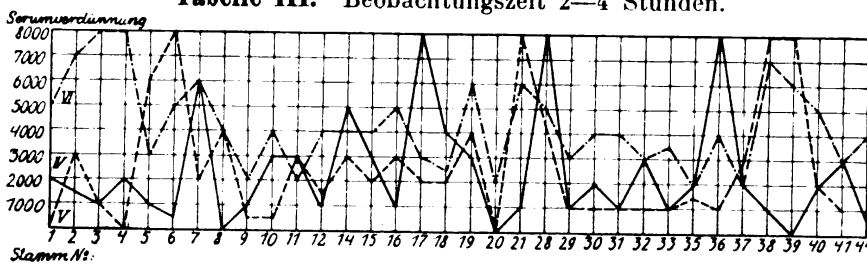


Tabelle IV. Beobachtungszeit 18—24 Stunden.

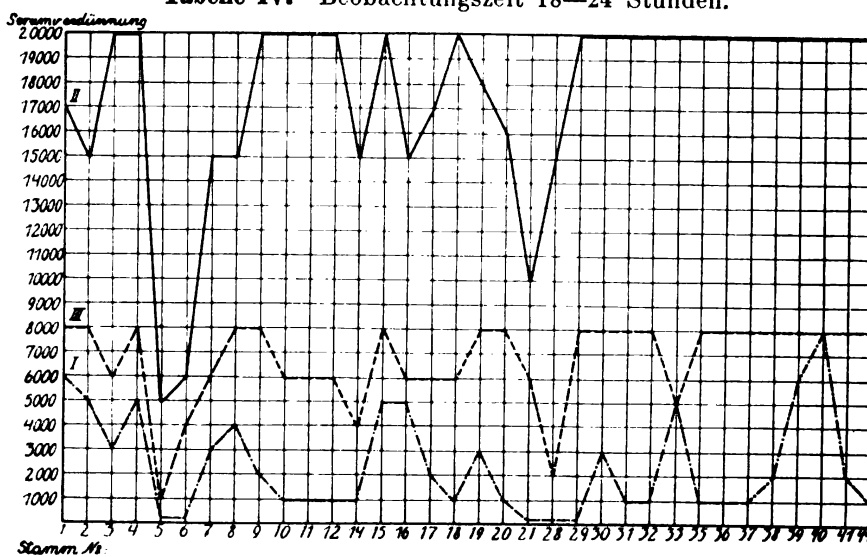
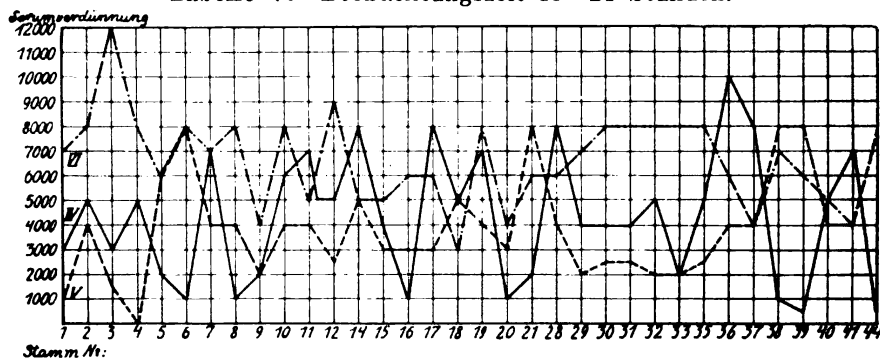


Tabelle V. Beobachtungszeit 18—24 Stunden.



Beobachtungszeit nur von 1 Serum, bei 24 h Beobachtungszeit nur von 2 Seren bei Prüfung mit 6 Seren identifiziert wurde. Diese Ergebnisse vorliegender Untersuchungen beweisen ebenso wie die oben angeführten Beobachtungen von Sobornheim und Seligmann¹⁾, Schern²⁾ und van Loghem³⁾, daß die Agglutinationsreaktion für die Diagnosenstellung der Pa.-B.-Bazillen ein zuverlässig arbeitendes Hilfsmittel häufig nicht ist. Wenn die paratyphusverdächtigen Bazillen von dem Serum mittelstark bis zur Titergrenze agglutiniert wurden, sind wir berechtigt, die Diagnose Pa.-B.-Bazillen zu stellen, wir sind aber nicht berechtigt, bei schwacher bzw. fehlender Agglutination die Diagnose »keine Paratyphusbazillen« zu stellen und die gefundenen Bazillen ohne weitere Untersuchung mit anderen Pa.-B.-Seren unberücksichtigt zu lassen.

Unsere Auffassung über die Unzuverlässigkeit der Agglutinationsreaktion für die Diagnose der Pa.-B.-Bazillen, die wir aus dem Verhalten der Stämme 21, 28, 5 und 6 abgeleitet haben, können wir noch weiter begründen, wenn wir den verschiedenen Verlauf der Titerlinien der 6 Seren vergleichen (Tab. II bis V).

Da der Nachweis erbracht ist, daß die Stämme 21 und 28 echte Pa.-B.-Stämme sind, können die mit diesen Stämmen hergestellten Seren neben die anderen Pa.-B.-Seren zum Vergleich gestellt werden.

Die Tabellen II bis V zeigen, daß weder bei 2 bis 4 h noch nach 18 bis 24 h Beobachtungszeit irgendeins der 6 Seren alle 34 Stämme

1) l. c. 2) l. c. 3) l. c.

einigermaßen gleichmäßig beeinflußt hat. Wäre dies der Fall, müßte die Titerlinie eines Serums ziemlich gleichmäßig ohne große Zacken verlaufen. Die Titerlinie eines jeden Serums ist aber mehr oder weniger zackig, und bei jedem Serum sinkt die Titerlinie bei dem einen oder anderen Stamm auf so geringe Titerhöhe, daß für diesen Stamm der Nachweis der Zugehörigkeit zur Pa.-B.-Gruppe nicht hätte erbracht werden können.

Am ungleichmäßigsten ist der Verlauf der Titerlinien bei 2 bis 4 h Beobachtungszeit, bei 24 h Beobachtungszeit sind die Titerlinien gleichmäßiger, die Zahl der tiefen Senkungen der Linie ist geringer geworden.

Es ist daraus zu entnehmen, daß für einen Teil der Pa.-B.-Stämme die Agglutination nach 2 bis 4 h noch nicht abgelaufen ist, sondern erst nach 18 bis 24 h. Gelegentliche Beobachtungen stellten fest, daß später als 18 bis 24 h kein Weitergehen der Agglutination erfolgte. Die fast allgemein übliche Methode, nach 2 bis 4 h die Beobachtung der Agglutination bei der Identifizierung eines verdächtigen Pa.-B.-Stammes abubrechen, ist also nicht richtig, da sie zu Fehl-diagnosen Veranlassung geben kann.

Aus der Tabelle VI ergibt sich, daß für die Seren I, IV, V die Zahl der Stämme, die selbst durch eine Ausdehnung der Beobachtung auf 24 h nicht mehr identifiziert werden, eine recht große ist. Für Serum I ist sie ungefähr die Hälfte, für die Seren IV und V ein Drittel der Anzahl der untersuchten Stämme.

Die Titerlinien der Seren decken sich keinesfalls. Täten sie es, würde es dafür sprechen, daß das eine Serum auf jeden Stamm ebenso einwirkte wie das andere, daß die Seren für jeden Stamm in gleicher Weise spezifisch seien. Dieses ist aber nicht der Fall. Wie auch aus Tabelle I ersichtlich, sind die meisten Pa.-B.-Stämme von den 6 Seren sehr verschieden stark beeinflußt worden.

Dies läßt sich auch aus der Zusammenstellung der Tabelle VI, in der für jedes Serum angegeben ist, wieviel Stämme bei 2 bzw. 24 h Beobachtungszeit identifiziert bzw. nicht identifiziert wurden, nachweisen. Würde die Agglutinationsfähigkeit der Seren den Stämmen gegenüber einigermaßen gleich sein, so

dürften die Zahlen der Tabelle VI nicht die vorhandenen großen Unterschiede bei den einzelnen Seren zeigen.

Tabelle VI.

Serum	Serum- titer Pa.-B.-Stämme agglutinierten				Nicht zu identifizieren waren Stämme (3 + 4)
		Titergrenze 1	mittelstark 2	schwach 3	nicht 4	
I R	6 000	$1/3000-1/4000$	$1/3000-1/2000$	$1/1000$	$1/500-1/100$	24 (18)
		2 h 6	4	5	19	
		24 h (8)	(8)	(12)	(6)	
II KGA	20 000	$1/20\,000-1/15\,000$	$1/14\,000-1/7000$	$1/8000-1/1000$	$1/500-1/100$	4 (2)
		2 h 19	11	4	—	
		24 h (31)	(1)	(2)	—	
III J. f. J.	8 000	$1/8000-1/6000$	$1/5000-1/3000$	$1/2000-1/1000$	$1/500-1/100$	7 (2)
		2 h 16	11	6	1	
		24 h (29)	(3)	(2)	—	
IV Sch	8 000	$1/8000-1/6000$	$1/5000-1/3000$	$1/2000-1/1000$	$1/500-1/100$	22 (11)
		2 h 4	8	17	5	
		24 h (10)	(13)	(9)	(2)	
V S	8 000	$1/8000-1/6000$	$1/5000-1/3000$	$1/2000-1/1000$	$1/500-1/100$	21 (11)
		2 h 5	8	16	5	
		24 h (6)	(17)	(10)	(1)	
VI Sp	8 000	$1/8000-1/6000$	$1/5000-1/3000$	$1/2000-1/1000$	$1/500-1/100$	6 (—)
		2 h 8	20	6	(—)	
		24 h (25)	(9)	(—)	(—)	

Die meisten Versager sind mit dem Serum I erzielt. Dies Resultat liegt vielleicht in der Hauptsache an den agglutinbildenden Eigenschaften des Stammes R, es spielt aber sicherlich auch das Alter des Serums ($3/4$ Jahr) eine Rolle. Die Agglutinine befanden sich im Abbau, denn der Titer war nach der Herstellung ca. $1/10000$ gewesen, also inzwischen auf die Hälfte gesunken. Den Verhältnissen der Praxis, wo man nicht immer frische Seren verwenden kann, entspricht der Gebrauch eines älteren Serums. Die Resultate, die mit diesem Serum erzielt wurden, sind aus diesem Grunde und, weil sie sich kaum von den mit einzelnen frischen Seren er-

hoben unterscheiden, zur Beurteilung der Agglutinationsverhältnisse mit herangezogen. Denn ebenso, wie dieses Serum, verhielten sich die Seren IV u. V, die frisch hergestellt waren, auch sie hatten bei 2 h Beobachtung $\frac{2}{3}$, bei 24 h Beobachtung $\frac{1}{3}$ Versager. Das Alter des Serums I allein braucht also nicht die Ursache seiner schwankenden Titerlinie zu sein. Die Seren II und VI arbeiteten am zuverlässigsten. Der Vergleich dieser Seren zeigt, daß ein hoher Agglutinationstiter nicht vor dem Versagen des einen oder anderen Stammes bei der Agglutination schützt. Sämtliche Stämme identifizierte nicht das sehr hochwertige Serum II, sondern das mittel-hochwertige Serum VI.

Wenn so der Einfluß eines Serums auf eine größere Zahl Stämme studiert wird, wird klar, wie jedes Serum seine Eigenheit hat. Wie wenig wird aber bei dem Arbeiten in einer bakteriologischen Untersuchungsanstalt in der Regel darauf geachtet und bei der Diagnosenstellung darauf Rücksicht genommen.

Recht lehrreich für die Beurteilung der Agglutinationsverhältnisse bei Paratyphus-B. ist der Vergleich der Titerlinien der Seren IV und V. Da die zu diesen Seren gehörenden Stämme sich den Seren I und II gegenüber ziemlich gleich verhielten, hätte man erwarten können, daß auch ihre agglutininbildenden Eigenschaften sehr ähnlich seien und die mit ihnen hergestellten Seren den einzelnen Stämmen gegenüber gleiche Wirksamkeit hätten.

Dies ist aber nicht der Fall. Im ganzen herrscht vor, daß die Stämme von dem einen Serum stark, von dem anderen Serum schwach beeinflußt werden. Eine gewisse Übereinstimmung herrscht insofern, daß beide Seren einige Stämme mittelstark beeinflussen.

Das eine Serum (IV) beeinflußt den Stamm (21) des anderen Serums (V) nur schwach, während der Stamm (28) dieses Serums (IV) von dem anderen Serum (V) mittelkräftig beeinflußt wird.

Die Übereinstimmung in den agglutininbindenden Eigenschaften der beiden Stämme 21 und 28 deutet darauf hin, daß diese Stämme ähnlichen chemischen Bau haben, die Differenzen in den agglutininbildenden Eigenschaften sprechen dagegen. Wenn man allein

aus den Agglutinationsergebnissen der Seren IV und V Schlüsse ziehen darf, würden diese vielleicht dahin gehen, daß die Pa.-B.-Stämme 21 und 28 den meisten der untersuchten Pa.-B.-Stämme in ihrem chemischen Bau nicht sehr nahestehen. Dann müßte man aber auch erwarten, daß die Stämme, die nur vom Serum IV bzw. V hoch beeinflußt werden, mit den anderen Seren gleiche Beeinflussung wie Stamm 21 und 28 zeigen. Die Stämme 36, 38, 39 beweisen das Gegenteil. Vom Serum II werden sie schnell und stark agglutiniert im Gegensatz zu den Stämmen 21 und 28, die nur langsam und teilweise nur mittelstark beeinflußt werden.

Irgendwelche Gesetzmäßigkeiten und Zusammenhänge lassen sich aber aus diesen Agglutinationsergebnissen nicht ableiten, und es lassen sich keine exakten Erklärungen geben dafür, weshalb das eine Serum so, das andere anders arbeitet.

Das gleiche ist der Fall bei dem allgemein so gut wirksamen Serum VI. Der zugehörige Stamm Nr. 3 zeigt gute Agglutination mit dem Serum II und III und unterscheidet sich dadurch vom Stamm 21 und 28. Wenn man aber berücksichtigt, daß Serum VI andererseits wieder Stämme schwach agglutiniert, die vom Serum II bzw. III stark beeinflußt werden, so wird man vom Suchen nach Zusammenhängen auch bei diesem Serum absehen.

Auch wenn man die Agglutinationsverhältnisse mit dem Alter, der Herkunft und pathogener Wirksamkeit der einzelnen Stämme in Zusammenhang bringen wollte, so würde dies Beginnen erfolglos sein.

Die Stämme 1 und 15, die ich 1907/8 im Elsaß züchtete, verhalten sich nicht anders wie die übrigen frischgezüchteten aus dem Anstaltsgebiet München. Stämme (2, 9, 11, 12 usw.), die aus den Stühlen von Patienten gezüchtet wurden, die unter Typhuserscheinungen erkrankt waren, verhalten sich ebenso wie die aus Stühlen von klinisch Ruhrkranken (Nr. 3, 7), von Cholera-kranken (Nr. 38, 41) und von Fleischvergiftungskranken (Nr. 10, 44) gezüchteten Stämme.

Auch von diesen Gesichtspunkten aus läßt sich in das Durcheinander der Beziehungen der Pa.-B.-Stämme und Sera keine Ordnung und Einteilung bringen.

Es herrscht hier eine Mannigfaltigkeit ohne eine für uns, bisher wenigstens, erkennbare Gesetzmäßigkeit.

Diese Verhältnisse können bedingt sein durch die Eigenschaften des zur Immunisierung benutzten Stammes, des immunisierten Tieres (und damit des Serums) und des zur Untersuchung genommenen Stammes.

Es fehlen bisher genügend genaue Einblicke in das Wesen der Agglutinationsreaktion, um den Anteil für jeden der drei Faktoren feststellen zu können.

Die Ergebnisse der Untersuchungen an den 34 Pa.-B.-Stämmen darf man wohl verallgemeinern und zu dem Schluß kommen, daß die Pa.-B.-Stämme ein recht verschiedenes agglutininbindendes Vermögen besitzen. Dieses äußert sich teils in einer Verlangsamung des Ablaufes der Reaktion, die oft erst nach 18 bis 24 h beendet ist, teils in einer mehr oder weniger großen Unvollständigkeit der Bindung, die bei einzelnen Stämmen und Seren zu fast vollständigem Ausbleiben der Reaktion führt.

Diese Schlußfolgerungen stehen mit denen von Sobernheim und Seligmann in Widerspruch. Diese schreiben: »Man erhielt den Eindruck, den auch Kutscher und Meinicke registrieren, daß der Rezeptorenbau der Pa.-B.-Bazillen ein sehr gleichmäßiger ist ohne erhebliche Schwankungen der Individualität.«¹⁾

Richtig ist, daß bei der Prüfung von 22 Pa.-B.-Stämmen mit mehreren Seren die Autoren keinen Stamm fanden, der völlig inagglutinabel war.

Für die Annahme eines »sehr gleichmäßigen« Rezeptorenbaues bieten aber m. E. gerade die von Sobernheim und Seligmann angegebenen Tabellen keine sicher beweisende Unterlage.

Die Autoren²⁾ führen selbst den Stamm Königsberg 13 an, der nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{200}$ mit einem multivalenten Serum K. G. A.-Titer $\frac{1}{5000}$ agglutinierte.

Vier weitere Pa.-B.-Stämme agglutinierten nur bis zur Verdünnung $\frac{1}{500}$ eines mit lebenden Kulturen hergestellten Pa.-B.-

1) l. c.

2) l. c. Tabelle 22.

Serums »Halle«, dessen Titer $\frac{1}{5000}$ ist¹⁾. Mehrere Stämme agglutinieren nur sehr schwach (i. d. V. 200 bis 1000) mit den beiden Seren des Stammes »Hulda«, dessen Titer zwischen 3 bis 5000 lag²⁾.

Bei diesen Stämmen wäre in der Praxis die bakteriologische Diagnose Paratyphus entweder nicht zu stellen gewesen oder hätte als zweifelhaft offen gelassen werden müssen.

Dies sind Beobachtungen, die mit den von mir oben angeführten übereinstimmen.

Da die Untersuchungen von **S o b e r n h e i m** und **S e l i g m a n n** aber nur das Agglutinationsergebnis nach 2 h berücksichtigen, läßt sich bei den oben angeführten Stämmen nicht sagen, ob es sich um eine Verzögerung der Reaktion oder um Unfähigkeit zur Bindung handelt.

Der Auffassung von **S o b e r n h e i m** und **S e l i g m a n n**, daß es sich um einen recht gleichmäßigen Rezeptorenbau bei den Pa.-B.-Bazillen handelt, d. h. daß von einem Pa.-B.-Serum verschiedene Pa.-B.-Stämme recht gleichmäßig agglutiniert werden, kann also auch auf Grund der von diesen Autoren angegebenen Tabellen nicht zugestimmt werden.

Wie oben schon bei der Besprechung der Seren und der Stämme hervorgehoben, haben die vorliegenden Untersuchungen von neuem bewiesen, daß agglutinin-bindende und -bildende Eigenschaften bei einem Pa.-B.-Stamm durchaus verschieden sein kann. **S o b e r n h e i m** und **S e l i g m a n n**, **S c h e r n**, **S t r o m b e r g** u. a. haben die gleichen Beobachtungen gemacht.

Da die Verhältnisse so liegen, daß ein Pa.-B.-Stamm sich inagglutinabel oder schlecht agglutinabel mit mehreren Seren erweisen kann, das mit ihm hergestellte Serum aber andere Pa.-B. stark zu agglutinieren vermag, darunter auch die Stämme der Seren, die den betreffenden Stamm nicht so zu beeinflussen vermochten, sind die agglutinatorischen Beziehungen der Pa.-B.-Bazillen untereinander so verworren, unübersichtlich und unberechenbar, daß auf Grund der Agglutinationsreaktion eine Einteilung der Pa.-B.-Bazillen nicht möglich ist.

1) l. c. Tabelle 26.

2) l. c. Tabelle 28 und 29.

Wichtig ist nun die Frage, ob es paratyphusverwandte Stämme gibt, die sich agglutinatorisch streng von den Pa.-B.- und Gärtnerbazillen unterscheiden, da das mit ihnen hergestellte Serum keine anderen Pa.-B.- bzw. Gärtnerstämme agglutiniert.

Wenn man sich die oben geschilderten verwickelten agglutinatorischen Verhältnisse der Pa.-B.-Bazillen und die von **S o b e r n h e i m** und **S e l i g m a n n** geschilderten der Gärtnerbazillen vergegenwärtigt, erkennt man, daß zur Beurteilung, ob die Agglutination nur stammspezifisch ist oder nicht, eine große Reihe von verschiedenen Pa.-B.- und Gärtnerstämmen und Seren zu vergleichenden Untersuchungen heranzuziehen sind.

Von **U h l e n h u t h** und seinen Mitarbeitern ist ein Stamm gefunden, der paratyphusverwandt war und ein Serum erzeugte, das andere Pa.-B.-Stämme und Gärtnerstämme nicht agglutinierte. Dieser Stamm wurde als Paratyphus C bezeichnet. Er ist von **H ü b e n e r** angeblich wieder gefunden als Erreger einer akuten Gastroenteritis¹⁾. Man vermißt bei diesen Angaben aber den Nachweis, daß das mit diesem Serum hergestellte Serum mit einer größeren Zahl verschiedener Pa.-B.- bzw. Gärtnerstämme und der Stamm selber mit vielen Seren geprüft ist und sich nicht diagnostizieren ließ.

Eingehendere Untersuchungen als die bisher veröffentlichten müssen die Berechtigung der Aufstellung der Pa.-C.-Gruppe erweisen.

Die Stämme der vorliegenden Untersuchungen, die man auf Grund ihrer Inagglutinabilität mit 1 bis 2 Seren zur Pa.-C.-Gruppe hätte rechnen können, haben sich bei Heranziehung mehrerer verschiedener Seren zur Prüfung sämtlich als echte Pa.-B.-Bazillen erwiesen. Täuschungen ist man also bei den verwickelten Agglutinationsverhältnissen der Pa.-B.- und Gärtnerbazillen leicht ausgesetzt.

Übergänge zur Gärtnergruppe haben die geprüften Pa.-B.-Stämme nicht gezeigt.

Die Stämme agglutinierten bei ihrer ersten Reinzüchtung mit Gärtnerserum nicht und haben sich auch während der Versuchs-

1) Med. Klinik 1909 Nr. 40.

zeit, die sich über mehrere Monate erstreckte, in dieser Hinsicht nicht verändert, wie durch wiederholte Prüfung mit zwei verschiedenen Gärtnerseren festgestellt wurde. Da eingehendere Untersuchungen in dieser Richtung nicht mit der vorliegenden Arbeit bezweckt wurden, sind Prüfungen von vielen Kolonien, in die die Kulturen z. B. beim Reinigen zerlegt wurden, nicht angestellt. Das Urteil bezieht sich also auf die Prüfung des Charakters der gesamten Kultur.

Nach **S o b e r n h e i m** und **S e l i g m a n n** verhalten sich die Pa.-B.-Bazillen gleichmäßiger als die Gärtnerbazillen, die angeblich häufiger in ihrem agglutinatorischen Verhalten wechseln und nach der Seite der Pa.-B.-Gruppe hin variieren sollen.

Auch **S t r o m b e r g**¹⁾ konnte bei seinen sorgfältigen Untersuchungen derartige Veränderungen der von ihm benutzten Pa.-B.-Stämme nicht beobachten.

Es ist klar, daß der oben geführte Nachweis von dem häufigen Versagen der Pa.-B.-Seren sicheren Pa.-B.-Stämmen gegenüber erhebliche Bedeutung für unsere bisherige Methode der Diagnose bei Pa.-B. hat. Sowohl bei der orientierenden Agglutination als auch bei der Identifizierung des kulturell geprüften Stammes gab der Ausfall der Agglutination mit einem Pa.-B.-Serum bzw. Gärtnerserum den Ausschlag.

Da wir aber dem negativen Ausfall der Agglutinationsreaktion mit einem Serum unter Umständen keine Beweiskraft zusprechen dürfen, müssen wir die Methoden der Diagnose den neu gewonnenen Kenntnissen anpassen.

Wir müssen einmal die Vornahme und das Ergebnis der kulturellen Prüfung höher bewerten, zum anderen die negative Diagnose nicht auf die Agglutination mit nur einem Serum aufbauen, weder bei der Probeagglutination der verdächtig gewachsenen Kolonien auf der Ausstrichkultur noch bei der Identifizierungsagglutination der gereinigten und kulturell geprüften Stämme.

In der Regel ist es Brauch, verdächtige, paratyphusähnlich gewachsene Kolonien, falls die Probeagglutination negativ aus-

1) l. c.

fällt, nicht weiter kulturell zu prüfen. Meistens wird zur Probeagglutination nur ein Serum benutzt. Diese Methode ist aber nicht richtig. Man erhält damit nur Stämme, die mit dem betreffenden Serum agglutinieren, und es entgehen der Feststellung alle die Stämme, die entweder vorübergehend oder dauernd mit diesem Serum inagglutinabel sind, trotzdem aber zur Pa.-B.-Gruppe gehören. Bei der Anwendung nur eines Pa.-B.-Serums wird der Untersucher sich im Laufe der Zeit nur ganz gewisse Pa.-B.-Stämme herauszuchten, nämlich solche, deren chemischer Bau zu dem betreffenden Serum paßt. Prüft er dann die Seren, die mit dem einen oder anderen von diesen Stämmen hergestellt sind, mit seinen Stämmen, so wird er unter Umständen ziemlich gleichmäßige Beeinflussung finden und zum Schluß, daß dieses Gesetz für die ganze Pa.-B.-Gruppe sei, verleitet werden. Es müssen möglichst viele Kolonien, die paratyphusähnlich gewachsen sind und ev. bei der Probeagglutination sich als inagglutinabel erweisen, kulturell geprüft werden. Die Stämme, die sich dann kulturell als echte Pa.-B. erweisen, würden dann weiter serologisch zu identifizieren sein.

Eine Reihe der zur vorliegenden Untersuchung benutzten Stämme ist nur dadurch gefunden, daß die kulturelle Prüfung ungeachtet des negativen Ausfalls der Probeagglutination vorgenommen wurde.

Die serologische Prüfung hat also stets, falls die Agglutination mit einem Serum versagt hat, mit anderen Seren, deren Stämme nach Herkunft und Agglutininbildung möglichst verschieden sein sollen, zu erfolgen.

Die Prüfung der Zugehörigkeit zur Gärtnergruppe muß selbstverständlich bei paratyphusverwandt erscheinenden Stämmen vor allem vorgenommen werden, und da die Verhältnisse bei der Gärtnergruppe ähnlich zu liegen scheinen wie bei Pa.-B., so würde auch für die Diagnose dieser Gruppe das für die der Pa.-B.-Gruppe Gesagte zu berücksichtigen sein.

Immerhin scheint die allgemeine Verbreitung der Gärtnergruppe sehr gegenüber der der Pa.-B.-Gruppe zurückzutreten, auch liegt nicht bei ihr die große epidemiologische und praktische

Bedeutung der Pa.-B.-Bazillen vor. Es würde also, natürlich je nach Sachlage des Falles, in erster Linie auf Pa.-B.-, in zweiter auf Gärtner-Agglutination zu untersuchen sein.

Man kann zur Identifizierung der verdächtigen Stämme multivalente Seren anwenden, die mit möglichst vielen Pa.-B.-Stämmen hergestellt sind. Ein solches haben schon K u t s c h e r und M e i n i c k e ¹⁾ benutzt und ein gleichmäßiges Arbeiten desselben festgestellt.

Praktische Erfahrungen mit solchen Seren sind in der Literatur wenig niedergelegt.

Ein auf U h l e n h u t h s Veranlassung im Kaiserl. Ges.-Amt hergestelltes multivalentes Pa.-B.-Serum wurde von mir benutzt und mit ihm recht gleichmäßige Resultate bei der Prüfung mehrerer Pa.-B.-Stämme erhalten²⁾).

S o b e r n h e i m und S e l i g m a n n haben offenbar mit demselben Serum gearbeitet und ein Versagen dieses Serums dem Stamm Königsberg-B gegenüber beobachtet.

Da bei der Produktion von Agglutininen es auch sehr auf die Individualität des betreffenden Tieres ankommt und es denkbar ist, daß gegen den einen oder anderen Stamm keine Agglutinine gebildet würden, erscheint es nicht sicher, durch Vorbehandlung mit mehreren Stämmen immer ein Serum zu bekommen, an dessen Gehalt an Agglutininen alle benutzten Stämme in gleicher Weise agglutininbildend beteiligt gewesen sind.

Aus diesem Grunde wird es vorteilhafter sein, wenn man den Tierverbrauch nicht zu scheuen hat, verschiedene univalente Seren sich herzustellen. Die Wahl der zur Immunisierung benutzten Stämme muß sich auf die Stämme erstrecken, die mit den vorhandenen Pa.-B.-Seren schlecht oder nicht agglutiniert werden.

Der Titer der Seren wird am besten nicht geringer als $\frac{1}{5000}$ sein. Seren mit Titer $\frac{1}{8-10\ 000}$ sind in der Regel leicht herzustellen und dürften den Anforderungen entsprechen.

Es kann nun bei der Diagnose entweder so vorgegangen werden, daß zur orientierenden Agglutination und Identifizierungs-

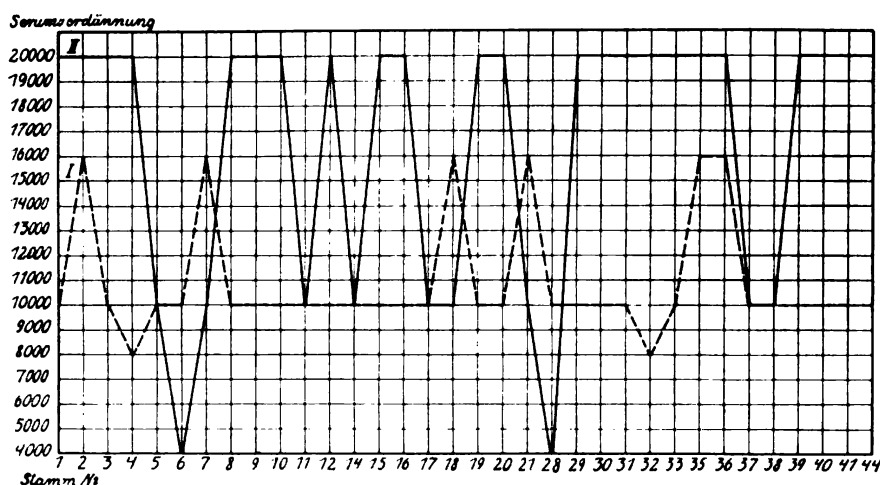
1) Zeitschrift f. Hygiene Bd. 52.

2) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 38 1911.

Agglutination in erster Linie ein bestimmtes Serum benutzt wird, und auf die anderen erst zurückgegriffen wird, wenn dieses versagt, oder in der Art, daß ein »Mischserum« verwandt wird, das alle vorhandenen Pa.-B.-Seren zu gleichen Teilen enthält.

Entweder mischt man die unverdünnten Seren und stellt sich dann durch entsprechenden Zusatz von phys. ClNa-Lösung eine Serummischung her, in der jedes Serum gleichmäßig verdünnt (z. B. 1 : 500) enthalten ist, oder man mischt Verdünnungen der Seren (z. B. 1 : 10) und stellt sich diese Mischung durch phys. ClNa-Zusatz auf einen bestimmten Gehalt jedes Serums ein.

Tabelle VII. Mischserum I u. II nach 2 Stunden.



Mit zwei nach dem letzten Verfahren hergestellten Mischseren wurden die 34 Pa.-B. obiger Versuche geprüft.

Das Mischserum I enthielt die Kaninchen-Seren I, III bis VI, das Mischserum II sämtliche 6 Seren, also außer den Kaninchen-Seren des Mischserums I noch das Eselserum II.

Die Beeinflussung der Stämme durch diese Mischseren ist im Vergleich zu der Beeinflussung der Stämme durch jedes einzelne Serum eine überaus gleichmäßigere geworden. Sehr deutlich zeigen dies die Titerlinien in den Tabellen VII und VIII.

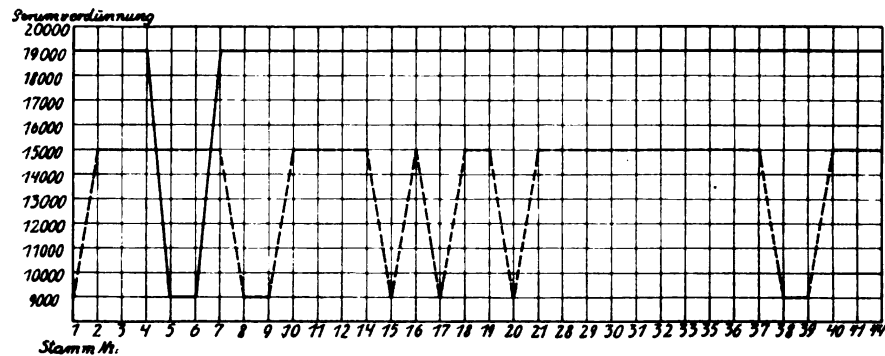
Mischserum II ermöglichte schon nach 2 bis 4 h die Identifizierung aller Stämme. Die Reaktion verlief also schnell und stark.

Interessant und nicht ohne weiteres erklärbar ist die Verzögerung der Reaktion bei den Stämmen 6 und 28, die das Mischserum I bei 2 bis 4 h Beobachtungszeit zeigte. Bei Wiederholung dieses Versuches erwies sie sich für Stamm 6 nicht konstant, dagegen trat sie wieder bei Stamm 28 auf.

Da sich Mischserum II von I durch den Gehalt des Serums II an einem Eselserum unterscheidet, muß dieses für die Reaktionsverzögerung angeschuldigt werden.

Man tut daher gut, zur Herstellung von Mischseren nur Seren gleicher Tierart (Kaninchen) zu benutzen.

Tabelle VIII. Mischserum I u. II nach 18—24 Stunden.



Weitere Erfahrungen liegen mir zurzeit nicht vor. Diese Untersuchungen sind aber so befriedigend ausgefallen, daß sich die Anwendung derartiger Mischsera in der bakteriologischen Praxis empfehlen würde.

Da aber die agglutininbindenden und agglutininbildenden Eigenschaften der zur Pa.-B.-Gruppe gehörenden Stämme überaus verschieden sein können und wir vorläufig noch keine Übersicht hierüber haben, wird man am ehesten sich vor Fehldiagnose schützen können, wenn man den negativen Ausfall der Agglutination auch mit derartigen Mischseren nicht als endgültig beweisend ansieht.

Paratyphus-Stämme, die mit Pa.-B.-Mischseren (und ev. Gärtner-Mischseren) nicht agglutinieren, würden der Gruppe »paratyphusverwandte Bazillen« einzureihen sein, und es wäre durch Prüfung der mit ihnen hergestellten Seren weitere Identi-

fizierung zu versuchen, ehe man sie einer besonderen Gruppe einordnet.

In der Paratyphusforschung, besonders in unserer Kenntnis über das etwaige ubiquitäre Vorkommen der Pa.-B.-Bazillen, wird ein Schritt vorwärts getan werden, wenn nicht stets die Agglutination, vor allem nicht die mit nur einem Serum zur Grundlage des Nachweises der Pa.-B. (Gärtnerbazillen) gemacht wird, sondern wenn die kulturelle Prüfung aller derjenigen Kolonien, die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchtet werden und die paratyphusverdächtig gewachsen sind, vorgenommen wird.

In dieser Weise verfuhr man bei der Feststellung der damals bekannten Infektionserreger des Darmkanals (Typhus und Cholera) vor der Entdeckung der Agglutinationsreaktion durch G r u b e r. Seitdem diese Reaktion ihren Siegeslauf angetreten, ist die kulturelle Prüfung bei der Diagnosenstellung vielfach zurückgedrängt, und man hat sie in der bakteriologischen Praxis auf die Kolonien beschränkt, mit denen die Probeagglutination positiv ausfiel.

Da sich nun herausstellt, daß weder bei der Diagnose des Paratyphus, noch des Bac. enteritidis Gärtner, der Ruhr und wahrscheinlich auch der Cholera der Agglutinationsreaktion unbedingte Zuverlässigkeit zukommt, so muß bei der bakteriologischen Diagnose dieser Erreger in der Praxis wieder mehr Gewicht auf die kulturelle Prüfung verdächtiger Kolonien gelegt werden.

Die Erkenntnis von der Unzuverlässigkeit der Agglutinationsreaktion, z. B. bei Paratyphus-B., erschwert die Diagnosenstellung sehr und kompliziert die anzuwendenden Methoden.

Sie führt uns aber von der Überschätzung der Reaktion hin zu einer richtigen Einschätzung derselben. Vor einer Unterschätzung durch einseitige Betonung der Grenzen ihrer Wirksamkeit bewahrt der Blick auf die unbestreitbaren großen Erfolge, die mit ihr bei der Diagnosenstellung erzielt sind und fernerhin sicherlich auch erzielt werden.

Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuserums.

Von
E. Weil.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Bei der Redaktion eingelaufen am 3. August 1912.)

Nachdem uns mit Hilfe der Aggresinimmunisierung die Herstellung eines sicher wirksamen Hühnercholera-Immuserums gelungen war, haben wir seit mehreren Jahren Versuche angestellt, um über die Wirkungsweise dieses Schutzserums Klarheit zu erlangen. Das Resultat dieser Untersuchungen war die Feststellung, daß weder die unzweifelhaft vorhandenen spezifischen bakteriziden Immunkörper des Hühnercholeraserums noch phagozytosebefördernde Stoffe den Schutzwert desselben bedingen. Die Besonderheiten, infolge welcher sich dieses Immuserum von den meisten bekannten Heilseris unterschied, waren hauptsächlich die, daß bei immunisierten Tieren nach langer Zeit lebende und für normale Tiere vollvirulente Bakterien nachweisbar waren, und daß die Hühnercholera Bakterien nur geringe Beziehungen zu den phagozytierenden Leukozyten aufwiesen. Ersterer Umstand sprach gegen die bakterizide Wirkung der Körpersäfte bei der Immunität, und letzterer gegen die Beteiligung der Leukozyten im Sinne einer Phagozytose. Was den ersten Punkt betrifft, so haben auch andere Autoren, welche sich nach uns mit der Hühnercholera-Immunität beschäftigt haben, dieselbe Beobachtung gemacht; so erwähnt

H u n t e m ü l l e r , daß er bei immunen Tieren noch nach Monaten vollvirulente Keime gefunden hat, und auch S u l i m a (im Laboratorium von M e t s c h n i k o f f) stellte dasselbe fest.

Gegen den zweiten Punkt hat in erster Linie M e t s c h n i k o f f Einspruch erhoben. Er wies zunächst darauf hin, daß die Vorstellung, bei bestehender Immunität spiele die Phagozytose eine untergeordnete Rolle, ein Unikum darstellen würde, was mit größter Vorsicht zu beurteilen sei, zumal die Hühnercholeraabazillen zu den kleinsten Bakterien gehören, bei welchen eine bestehende Phagozytose leicht entgehen könne. Da wir trotz fehlender Phagozytose den Leukozyten dennoch eine Bedeutung für die Unterdrückung der Infektion mit Hühnercholeraabakterien zugeschrieben haben, so wäre es nach M e t s c h n i k o f f s Ausspruch nicht verständlich, wie denn die Leukozyten anders als durch ihre Freßtätigkeit wirken sollten.

Diese Einwendungen hat M e t s c h n i k o f f allerdings gemacht bevor er sich durch eigene Untersuchungen von der Stichhaltigkeit unserer Angaben überzeugt hat. Erst in neuerer Zeit ist dies durch Versuche, die S u l i m a in seinem Laboratorium ausgeführt hat, geschehen. Die Befunde, die dieser Autor bei gegen Hühnercholera immunisierten und bei Kontrolltieren erzielte, sind ungefähr folgende: Bei den unvorbehandelten Tieren (Kaninchen und Meerschweinchen) erfolgt ein geringer Zustrom der Leukozyten zur Infektionsstelle, dahingegen eine sofort einsetzende Vermehrung der Bakterien, die nach 4 bis 6 Stunden schon so weit fortgeschritten ist, daß die nun anwesenden Leukozyten ihnen gegenüber machtlos sind. Bei den immunisierten Tieren ist der Zufluß der Leukozyten zur Infektionsstelle ein sehr starker, die Keime vermehren sich nicht, sie werden von Leukozyten in großer Zahl umgeben, die Bakterien werden schlecht färbbar und sind nach 5 bis 6 Tagen noch nachweisbar; in den Fällen jedoch, wo ein Abszeß sich bildet, findet man dieselben noch nach zwei Monaten, so daß man annehmen muß, daß sie sich vermehrt haben. Was die Phagozytose betrifft, so beginnt dieselbe 6 bis 8 Stunden nach der Infektion, sie ist ausnahmslos sehr schwach, »es ist uns sehr oft (bien souvent) vorgekommen, zu beobachten, daß am dritten bis

vierten Tag nach der Injektion Gruppen von Bakterien ganz von Leukozyten eingeschlossen waren, ohne daß ein Keim aufgenommen (phagozytiert) war¹⁾. Verfasser kann sich diese »phagocytose paresseuse« nicht erklären, da ja die Menge der anwesenden Leukozyten eine so große ist.

Wenn wir die hier mitgeteilten Befunde, die S u l i m a in M e t s c h n i k o f f s Laboratorium erzielt hat, mit den unserigen, die von M e t s c h n i k o f f bestritten wurden, vergleichen, so sehen wir eine vollkommene Übereinstimmung. Denn auch wir haben, wie aus allen unseren Arbeiten hervorgeht, das Bestehen einer Phagozytose nicht geleugnet, sondern nur darauf hingewiesen, daß dieselbe so unsicher und geringgradig ist, daß sie als die Ursache der Vermehrungsunfähigkeit der Hühnercholeraabazillen bei immunisierten Tieren nicht angesehen werden kann. Und das geht doch wohl auch zur Genüge und mit voller Klarheit aus der Arbeit S u l i m a s hervor. Denn da beim unvorbehandelten Tier nach 4 bis 6 Stunden die Vermehrung bereits sehr stark fortgeschritten ist, beim Immuntier jedoch die Phagozytose erst nach dieser Zeit beginnt, und die Bakterien sich trotzdem bis zu dieser Zeit nicht vermehrt haben, so kann doch selbstverständlich die Phagozytose nicht für den Wachstumsstillstand der Bakterien verantwortlich gemacht werden. Dies um so weniger, wenn man bedenkt, daß S u l i m a in Übereinstimmung mit unseren Versuchen »bien souvent« nach 6 bis 8 Tagen, ja selbst nach Monaten noch, extrazellulär gelagerte Bakterien findet. Nun hat aber auf Grund dieser Befunde auch S u l i m a eingesehen, daß die Phagozytose unmöglich die Immunität gegen Hühnercholera erklärt und hat nach einer anderen Erklärungsmöglichkeit gesucht. Wenn wir nun unsere Anschauung, »es scheint aber auch hier den Leukozyten, wenn auch nicht als Freßzellen, eine große Bedeutung zuzukommen, indem die in großer Zahl angesammelten Leukozyten die Bakterien ihrer Aggressivität berauben«, die von M e t s c h n i k o f f so absonderlich gefunden wurde, mit der von S u l i m a« so sind

1) Il nous est arrivé bien souvent d'observer le 3—4^e jour après l'injection, des groupes microbiens tout entourés de leucocytes sans qu'un seul germe fut englobé.

wir gezwungen, anzunehmen, daß die Leukozyten eines immunisierten Organismus die spezifische Eigenschaft erworben haben, die Vitalität der Mikroben zu paralisieren«, vergleichen, so merken wir auch hier eine vollkommene Übereinstimmung. Im Interesse der Objektivität wäre es nötig gewesen, dies zu betonen, da ja die Arbeit S u l i m a s auf Anregung M e t s c h n i k o f f s deshalb ausgeführt wurde, um unsere Vorstellungen zu korrigieren. Mit Sicherheit muß man aber aus diesen Untersuchungen zur Ansicht gelangen, daß die Phagozytose für die Hühnercholera-Immunität eine untergeordnete Rolle spielt, was um so überzeugender wirken dürfte, da sich diese Vorstellungen aus einer Arbeit aus dem M e t s c h n i k o f f s chen Laboratorium ableiten lassen. Durch das Fehlen einer nennenswerten Phagozytose bei immunen Tieren ist gleichzeitig den Oponinen jegliche Bedeutung genommen.

Der Nachweis der spezifischen Reagenzglasbakterizidie durch unsere Versuche war deshalb von Interesse, weil dieselbe von allen früheren Untersuchern, welche sich mit der Immunität gegen hämorrhagische Septikämie beschäftigt haben, vermißt wurde. Da jedoch unser Immunserum nach neuen Prinzipien hergestellt war und alle bisherigen an Wirksamkeit übertraf, so war die Frage genau zu erörtern, ob nicht der Schutzwert desselben auf seine bakteriziden Eigenschaften beruhe. Auf Grund von Versuchen und Erwägungen sahen wir uns hauptsächlich aus folgenden Gründen genötigt, die Beteiligung der bakteriziden Immunkörper bei der Immunität gegen Hühnercholera abzulehnen. Zunächst war die im Reagenzglase nachweisbare Bakterizidie nicht bei allen schützenden Seris vorhanden, sondern nur bei denen, welche von intensiv vorbehandelten Tieren gewonnen waren. Allerdings würde diesem Umstand eine nicht allzu große Beweiskraft zukommen, da ja der Tierkörper das empfindlichere Reagens für den Nachweis der Bakterizidie darstellen kann. Mehr beweisend war schon die Tatsache, daß Hühnercholera-Immunsera öfters nach längerer Zeit ihren Schutzwert vollkommen einbüßten, ohne daß die Reagenzglasbakterizidie verschwand. Außerdem stand die Beobachtung, daß Hühnercholeraabakterien so lange Zeit bei immunen Tieren lebend und virulent nachweisbar sind, vollkommen in Widerspruch

mit den diesbezüglichen Vorgängen bei bakterizid immunen Tieren, wo bereits nach sehr kurzer Zeit (Minuten bis Stunden) die Bakterien am Orte der Infektion durch die bakterientötende Wirkung der Säfte vernichtet werden. Auch war es niemals gelungen, auch nicht unter den allergünstigsten Bedingungen, eine Sensibilisierung der Bakterien zu erzielen. Ausnahmslos gingen solche Tiere zugrunde, wenn nicht die schützende Menge Immunerums miteingespritzt wurde. Bakterien jedoch, welche der bakteriziden Säftewirkung erliegen, werden ohne weiteres im Tierkörper abgetötet, wenn sie mit den spezifischen Immunkörpern sensibilisiert sind. Schließlich konnte in zusammen mit Braun angestellten Versuchen gezeigt werden, daß ein Hühnercholera-Immuneserum, welches durch Behandlung mit Hühnercholera-Bakterien leicht seine Bakterizidie verliert, seinen Schutzwert für den Tierkörper nicht einbüßt. Insbesondere aus den letztgenannten Versuchen wurde der Schluß gezogen, daß die eigentlichen Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuneserums in keiner Beziehung zu den bakteriziden Stoffen desselben stehen, welche letztere ebenso wie die agglutinierenden und präzipitierenden Serumstoffe von den Bakterien gebunden werden. Wir haben angenommen, daß die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuneserums auf das Aggressin dieses Mikroorganismus wirken und deshalb zur gewöhnlichen Leibessubstanz keine Beziehung aufweisen. Da wir das Aggressin, ähnlich wie das Toxin, als ein Stoffwechselprodukt auffaßten, so haben wir untersucht, ob die Antitoxine mit den Bakterienleibern in Reaktion treten. Wir konnten leicht zeigen, daß das Diphtherieheilserum durch Behandlung mit gewaschenen toxischen Bakterien in bezug auf seinen Schutzwert unverändert bleibt, und Pfeiffer und Bessa u konnten, allerdings von anderen Voraussetzungen ausgehend, den Nachweis erbringen, daß die antitoxische Komponente des Dysenterieimmuneserums von den Bakterienleibern der Dysenteriebazillen, die nicht einmal vom Toxin befreit waren, nicht gebunden wird.

Infolge dieser Analogien haben wir die Meinung geäußert, daß die Schutzstoffe jener antibakteriellen Immunesera, welche durch Bakterienbehandlung nicht unwirksam werden, nicht auf den Bakterienleib, sondern auf ein Stoffwechselprodukt desselben, auf

das Aggressin, wirken. Von den antitoxischen Seris lassen sich diese dadurch differenzieren, daß sie, wenn das Tier mit den komplementbindenden Mitteln¹⁾ behandelt wird, wirkungslos sind, während die antitoxischen Sera bei der gleichen Behandlung ihre Schutzkraft beibehalten.

Diese letzteren Versuche wurden vor vier Jahren angestellt, und unsere Erfahrungen, die wir seit dieser Zeit bei der Verfolgung des Problems der bakteriellen Infektion gesammelt haben, wiesen darauf hin, daß spezifische bakterizide Schutzstoffe, wenn sie im Reagenzglas nachweisbar sind, auch im Tierkörper in Kraft treten müssen, doch in erster Linie an jenen Stellen, wo die Säftewirkung sich leicht entfalten kann. So in der Peritonealhöhle und in der Blutbahn. Im subkutanen Gewebe ist, worauf schon Pfeiffer hingewiesen hat, die bakterizide Tätigkeit der Säfte verlangsamt, und in den Organen fehlt sie fast vollkommen. Da die Infektion in unseren früheren Versuchen — wir werden unten den Grund hierfür angeben — von der Subcutis aus vorgenommen wurde, so war es aus den angeführten Gründen immerhin möglich, daß uns ein Verlust einer bakteriziden Komponente durch die Bakterienbehandlung entgehen konnte, und wir haben es für notwendig erachtet, die Versuche noch einmal, und zwar mit interperitonealer Infektion, durchzuführen. Dies setzte allerdings voraus, daß wir über ein Serum verfügten, welches vom Peritoneum aus Mäuse mit Sicherheit schützt. Wir haben zwei Kaninchen in Zwischenräumen von sechs Tagen sechsmal je 10 ccm sterilen Aggressins subkutan injiziert und 10 Tage nach der letzten Injektion jedem Tiere 30 ccm Blut aus der Jugularvene entnommen, die Sera gemischt und, wie der beifolgende Versuch zeigt, an Mäusen eintitriert.

1) Wir haben nicht, wie Neufeld uns zuschreibt, behauptet, daß hierbei die Entfernung des Komplementes den Verlust des Schutzwertes bedingt, sondern ausdrücklich, und zwar auch in einer Diskussion mit Neufeld, hervorgehoben, daß die komplementbindenden Mittel auch auf andere Stoffe im Organismus als auf das Komplement wirken können. In neueren Versuchen haben wir gefunden, daß hierbei die Paralyse der Leukozytenstoffe, die auch von komplementbindenden Substanzen absorbiert werden, das Wesentliche ist.

Versuch I.

Maus	Immuneserum	Bouillonkultur	Resultat
1	0,25 ccm	+ 0,001 ccm Bouillonkultur intraperitoneal	lebt
2	0,1 „	+ 0,001 „	„
3	0,05 „	+ 0,001 „	„
4	0,01 „	+ 0,001 „	„
5	0,005 „	+ 0,001 „	„ stirbt nach 2 Tgn.
6	0,25 „ Normalserum	+ 0,001 „	„ stirbt nach 8½ Std.

Das Immuneserum, welches wir von diesen beiden Tieren erzielt haben, ist ungemein wirksam, da es in der Menge von 0,01 ccm gegen eine gleichzeitige Intraperitonealinfection, die das Kontrolltier in wenigen Stunden tötet, schützt.

Ein derartig hochwertiges Serum erlangt man nur ungemein selten, meist schützt es in der Dosis von 0,1 bis höchstens 0,05 ccm. Es war nun festzustellen, wie sich dieses Serum nach der Behandlung mit Bakterien verhält. Die Bakterienbehandlung haben wir auf folgende Weise durchgeführt.

Da es uns darauf ankam, möglichst große Mengen von Bakterien zu bekommen, und da unser Stamm auf festen Nährböden nur schwaches Wachstum zeigte, haben wir für jeden Versuch zwei Kölbchen mit je 100 ccm Bouillon geimpft und dieselben 24 bis 48 Std. in den Brutschrank gestellt. Nach dieser Zeit wurde der Inhalt der Kölbchen in Zentrifugierröhrchen gefüllt und die Bakterien möglichst vollkommen (jedes Röhrchen 2 Std. bei 3000 Umdrehungen) zentrifugiert. Der Inhalt sämtlicher Röhrchen, meist 24, wurde dann in 15 bis 20 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt in einer großen Eprovette vereinigt und durch sorgfältiges Erhitzen (Abbrennen des Randes) 1 Std. bei 62 bis 65° sterilisiert. Nachher wurde der Inhalt in zwei Zentrifugiereprovetten verteilt, zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit vollkommen abgegossen und der Satz kulturell auf Sterilität untersucht. Am nächsten Tage wurde der Satz des einen Röhrchens mit 2 ccm Immuneserum überschichtet, und nach Verteilung der Bakterien auf 2 Std. in den Brutschrank gestellt und hierauf zentrifugiert; das überstehende Serum wurde nun auf das Zentrifugierröhrchen mit dem zweiten Bodensatz aufgegossen und ebenso behandelt, so daß das Immuneserum zweimal mit dem Bodensatz von je 100 ccm Bouillonkultur in Kontakt war. Eine gleiche Menge unbehandelten Immuneserums wurde dieselbe Zeit wie das behandelte in den Brutschrank gestellt, um als Kontrolle für eine ev. nichtspezifische Abschwächung zu dienen. In allen nun folgenden Versuchen wurde das Immuneserum in der eben beschriebenen Weise mit Bakterien erschöpft.

Versuch II.

Maus						Std.
7	0,25 ¹⁾	ccm beh. ²⁾	Imm.-Ser.	+ 0,001	ccm Kultur intraper.	stirbt nach 12
8	0,01	„	„	+ 0,001	„ „ „	22
9	0,05	„	„	+ 0,001	„ „ „	18
10	0,01	„	„	+ 0,001	„ „ „	18
11	0,25	„ unbeh.	„	+ 0,001	„ „ „	lebt
12	0,1	„	„	+ 0,001	„ „ „	„
13	0,05	„	„	+ 0,001	„ „ „	„
14	0,01	„	„	+ 0,001	„ „ „	„

Maus 15 (Kontrolle) 0,001 ccm Kultur intraper. stirbt nach 11 Std.

Dieser Versuch zeigt, daß die Behandlung mit Bakterien das Immunserum derart verändert hat, daß mindestens 25 schützende Dosen verschwunden sind. Nun wäre es immerhin möglich, daß es sich um einen nichtspezifischen Vorgang handelt, indem durch die Behandlung des Serums mit so massenhaften Bakterien viel Bakteriensubstanz in Lösung gegangen ist, sich ein Bakterienextrakt gebildet hat, welcher die Schutzstoffe in der Bauchhöhle paralyisiert, so daß das Immunserum nicht wirken kann. Es war deshalb nötig, das Hühnercholera-Immunserum auch mit nichtspezifischen Bakterien zu behandeln und hierauf zu prüfen. Wir haben es mit der gleichen Menge Choleravibrionen in Kontakt gebracht.

Versuch III.

Maus 16	0,2 ccm	} mit Cholera behandelt. Imm.-Ser.	} + 0,001 ccm Kultur intraperitoneal	lebt	
„ 17	0,1 „			+ 0,001 „ „ „	„
„ 18	0,05 „			+ 0,001 „ „ „	„
„ 19	0,01 „			+ 0,001 „ „ „	„
Maus 19	0,2 ccm	mit Hühnercholera beh. Immunserum			
„ 20	0,1 „	+ 0,001 „ „ „	„ „	10 „	
„ 21	0,05 „	+ 0,001 „ „ „	„ „	22 „	
„ 22	0,01 „	+ 0,001 „ „ „	„ „	18 „	
Maus 23	0,2 ccm	Normalser.	+ 0,001 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 11 Std.	
„ 24	0,2 „	„ „	+ 0,001 „ „ „	„ „ 12 „	

Wir sehen, daß es sich hier um eine spezifische Erschöpfung handelt, indem Choleravibrionen das Hühnercholera-Immunserum

1) Da das behandelte Immunserum durch die zweimalige Behandlung eine Verdünnung erfuhr, so wurde stets von ihm etwas mehr injiziert, so statt 0,025, 0,028 etc. — 2) d. h. mit Bakterien erschöpftes Immunserum.

vollkommen unverändert lassen. Es unterliegt also nach diesen Versuchen keinem Zweifel, daß sich die vom Peritoneum aus wirkenden Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuserums durch Bakterienbehandlung entfernen lassen und sich in dieser Hinsicht in nichts von bakteriolytischen Amboceptoren unterscheiden. Nun haben wir aber, wie bereits erwähnt, früher die Behauptung aufgestellt, daß die Hühnercholera-Immunstoffe sich gerade dadurch von den meisten bekannten Immunkörpern unterscheiden, daß sie von den spezifischen Bakterien nicht gebunden werden, so daß jetzt die Notwendigkeit vorliegt, diesen Widerspruch aufzuklären. Das Nächstliegende wäre, anzunehmen, daß unsere früheren Untersuchungen unrichtig waren, und die Differenz sich dadurch erklären ließe, daß wir jetzt viel größere Bakterienmengen zur Erschöpfung des Serums verwendet haben, so daß wir in unseren früheren Experimenten nur einen Teil der Schutzstoffe entfernt hatten. Diesen Einwand haben wir jedoch bereits damals in Erwägung gezogen und uns davor geschützt, daß wir das behandelte Serum bis zur Titergrenze geprüft haben, so daß uns auch der geringste Immunkörperverlust nicht hätte entgehen können. Viel wichtiger scheint uns eine andere Verschiedenheit in unserer früheren und jetzigen Versuchsanordnung zu sein. Denn während wir jetzt die Immunisierung und Infektion gleichzeitig und intraperitoneal vorgenommen haben, wurde in unseren früheren Versuchen das Immuserum 18 Stunden vor der Infektion subkutan injiziert und die Infektion ebenfalls subkutan durchgeführt. Die vorzeitige Immuserumeinspritzung haben wir aus dem Grunde gewählt, weil wir die oben erwähnte Wirkung des Komplementbindenden Systems (Hühnercholera-Extrakt + Hühnercholera-Immuserum) ausschalten wollten, und die subkutane Infektion deshalb, weil uns die intraperitoneale Infektion bei so empfindlichen Tieren wie Mäusen, zu schwer schien. Es war nun zu prüfen, ob die differente Versuchsanordnung auch die Differenz zwischen den früheren und jetzigen Versuchen erklärt.

Versuch IV.

Das behandelte Immuserum in diesem Versuche ist dasselbe, welches in Versuch II, III, V u. VI angewendet wurde.

Maus 25	0,25 ccm	behandeltes Immun- serum subcutan Normalser. subcutan	nach 24 Std. infiziert mit $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan	lebt „ „ „ stirbt nach 36 Stunden „ „ 48 „
„ 26	0,1 „			
„ 27	0,05 „			
„ 28	0,01 „			
„ 29	0,25 „			
„ 30	0,25 „			

Versuch V.

Maus 31	0,1 ccm beh. Imm.-Ser.	+ $\frac{1}{100}$ Tropf. intraper.	stirbt nach 24 Std.
„ 32	0,1 „ unbeh. „	+ $\frac{1}{100}$ „ „	lebt
„ 33	0,1 „ Normalserum	+ $\frac{1}{100}$ „ „	stirbt nach 18 Std.

(Kontrolle)

Maus 34	0,1 ccm beh. Imm.-Ser.	subcutan	nach 16 Stunden	lebt „ stirbt nach 32 St.
„ 35	0,1 „ unbeh. „	„	$\frac{1}{10}$ Tropfen	
„ 36 (Kontrolle)	0,1 ccm Normalserum	subcutan	subcutan	

Versuch VI.

Maus 37	0,2 ccm	mit Cholera behandeltes Immunserrum subcutan	nach 18 Stunden $\frac{1}{10}$ Tropfen subcutan	lebt „ „ „
„ 38	0,1 „			
„ 39	0,05 „			
„ 40	0,01 „			
Maus 41	0,2 ccm	mit Hühnercholera behandeltes Immunserrum subcutan	nach 18 Stunden $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan	lebt „ „ „
„ 42	0,1 „			
„ 43	0,05 „			
„ 44	0,01 „			

Maus 45 (Kontrolle) 0,2 ccm Normalserum subcutan, nach 18 Stunden $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan, stirbt nach 48 Stunden.

Wie die vorangehenden Versuche IV, V, VI zeigen, macht es sehr viel aus, ob das Immunserrum vorzeitig oder gleichzeitig mit der infizierenden Kultur injiziert wird, denn bei ersterer Applikation sehen wir von einem Schutzverlust des Serums nichts, insbesondere wenn die darauffolgende Infektion subkutan vorgenommen wird. Jedenfalls zeigen diese Versuche, daß unsere früher mitgeteilten Experimente (Weil und Braun) vollkommen richtig waren.

Nur eine Tatsache ist auffallend, welche vielleicht einen Einwand berechtigt erscheinen läßt. Es tritt nämlich hier ein Umstand in Erscheinung, den wir bei unseren ungemein zahlreichen früheren Versuchen niemals beobachtet haben, daß nämlich die mit normalem Serum vorbehandelten Kontrollen eine deutliche Lebensverlängerung aufweisen, indem sie erst nach 30, ja sogar nach 48 Stunden sterben (Maus 29, 30, 36, 45), während in allen unseren

früheren Versuchen, wie aus den diesbezüglichen zahlreichen Protokollen hervorgeht, eine Lebensdauer von 24 Stunden bei nichtspezifisch vorbehandelten Kontrolltieren fast nie erreicht wurde. Bereits V o g e s hat darauf hingewiesen, daß man bei Versuchen mit den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie die nichtspezifische Resistenz in Rechnung ziehen muß, die er sehr leicht erzeugen konnte, wenn er Meerschweinchen mehrere Stunden vorher irgendein normales Serum injizierte. Da wir bei Hühnercholera-ersuchen niemals auch nur eine Andeutung von nichtspezifischer Resistenz bei Tieren beobachten konnten, haben wir uns die Resultate von V o g e s damit erklärt, daß seine Kulturen, wie er selbst angibt, eine sehr labile Virulenz aufwiesen, und daß er seine Versuche bei Meerschweinchen, einem von Natur aus resistenten Tiere, anstellte. Außerdem hatte er bei einem Stamm von Wildseuche, wie aus seinen Protokollen zu ersehen ist, niemals diese nichtspezifische Widerstandsfähigkeit bemerken können, und diesen Mikroorganismus glaubten wir unserem Hühnercholera-stamm an die Seite stellen zu können. Nun können auch wir bei unserem Stamme eine Andeutung dieser nichtspezifischen Resistenz konstatieren. Es war uns sofort klar, daß dies nur damit in Zusammenhang steht, daß unser Stamm durch vier Jahre eine Tierpassage nicht durchgemacht hatte, und aus dem Grunde eine geringe Schwankung in seiner Virulenz erfahren hatte. Da man nun unseren jetzigen Versuchen einwenden könnte, daß bei der Schutzwirkung des vorzeitig injizierten, mit Bakterien behandelten Immunserums nichtspezifische Momente mitspielen könnten, haben wir unsere weiteren Versuche mit unserem Stamm durchgeführt, nachdem er fünf Mäusepassagen durchgemacht hatte.

Wir möchten noch, bevor wir unsere Versuche mitteilen, auf einen Umstand hinweisen, der bei der Durchführung größerer Versuchsreihen mit Mäusen zu berücksichtigen ist. Es ist nämlich unumgänglich notwendig, über gesunde Tiere zu verfügen. So hatten wir glücklicherweise gleich mit der ersten Sendung eine Reihe von Versuchen angestellt, die vollkommen unregelmäßig ausfielen, indem die Tiere ganz regellos starben; erst die genauere Sektion zeigte uns, daß hier eine Spontaninfektion mit einem paratyphusähnlichen Stäbchen vorlag, die sich dadurch ausbreitete, daß auf dem Transporte eine Anzahl von gestorbenen Mäusen von den anderen aufgefressen wurde. Gerade die aus dieser Quelle bezogenen Mäuse wiesen sehr

häufig diese Infektion auf, so daß von mancher Sendung von 100 Tieren 60 bis 70 spontan starben. Daraus ist der Schluß abzuleiten, jede Maus zu sezieren und größere Versuchsreihen nur mit solchen Mäusen anzustellen, welche zuvor längere Zeit beobachtet und gesund befunden wurden. Auch ist bei der intraperitonealen Injektion von Mäusen genau darauf zu achten, daß sie injizierte Flüssigkeit nicht wieder aus der Bauchhöhle zurückläuft, was leicht geschieht, wenn man nicht die Injektionen mit einer feinen Kanüle ausführt.

Der beifolgende Versuch zeigt die Virulenz des fünfmal durch Mäuse geschickten Hühnercholera-Stammes.

Versuch VII.

Maus 46	0,2 ccm Normal- subcutan	n. 18 Stdn.	0,001 ccm	Kultur subcutan	stirbt nach weniger als 18 Stunden	
„ 47			0,0001 „			„ „ „ „ 32 „
„ 48			0,00001 „			„ „ „ „ 25 „
„ 49			0,000001 „			„ „ „ „ 24 „
Maus 50	0,2 ccm Normal- serum	nach 18 Stdn.	0,000001 ccm	Kultur intrap.	stirbt nach weniger als 18 Stdn.	
„ 51			0,0000001 „			„ „ „ „ 18 „
„ 52			0,00000001 „			„ „ „ „ 18 „

Wir sehen, daß bei der Infektion mit der Menge von 1 Millionstel ccm Bouillonkultur von der Subcutis und mit 1000 Millionstel ccm vom Peritoneum aus die untertödliche Dosis noch nicht erreicht ist, so daß wir nicht zu befürchten brauchen, in unseren Versuchen mit knapp tödlichen Dosen zu infizieren, da wir von der Subcutis aus meist mit $\frac{1}{10}$ Tropfen, d. i. 0,005 ccm, und vom Peritoneum aus mit 0,001 ccm Bouillonkultur die Mäuse infizierten. Auch sehen wir hier wie in den folgenden Versuchen keine Andeutung mehr einer nicht spezifischen Resistenz, die beim nicht passierten Stamm vorhanden schien.

Die nun folgenden Versuche wurden zu dem Zwecke ausgeführt, um mit Sicherheit zu konstatieren, ob unter allen Umständen das mit Bakterien behandelte Immunserum nur bei gleichzeitig mit der Immunisierung vorgenommenen Infektion seinen Schutz verliert, und ihn beibehält, wenn dieses Immunserum einige Zeit vor der Infektion injiziert wird. Außerdem war zu prüfen, wie sich sowohl in bezug auf die Immunisierung als auch auf die Infektion die verschiedenen Stellen (Subcutis, Peritoneum) des Körpers verhalten. Geschah die nachträgliche Infektion vom Peritoneum aus, so wurde das vorzeitig gegebene Immunserum

subcutan injiziert und umgekehrt. Die Infektion der einzelnen Gruppen von Mäusen wurde zu derselben Zeit vorgenommen, und zwar so, daß die vorzeitig immunisierten Tiere am Abend vorher mit Immuserum behandelt und am folgenden Morgen mit den gleichzeitig immunisierten und infizierten Tieren zusammen die Bakterieneinspritzung erhielten.

Versuch VIII.

2 ccm Immuserum werden, wie früher beschrieben, mit Hühnercholera-bakterien behandelt und zu diesem und dem folgenden Versuche verwendet.

Maus 53	0,2 ccm	Immuserum	+ $\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur	intraperitoneal	lebt			
„ 54	0,1	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„	„			
„ 55	0,05	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„	„			
„ 56	0,01	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„	„			
Maus 57	0,2 ccm	behandelt. Immuser.	+	$\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur intraper.	stirbt nach 8 Stdn.			
„ 58	0,1					„	„	„	12
„ 59	0,05					„	„	„	20
„ 60	0,01					„	„	„	8
Maus 61	0,2 ccm	Normalser.	+ $\frac{1}{10}$	Tr. Kultur	stirbt nach 8 Std.				
„ 62	0,2	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„	8			
Maus 63	0,2 ccm	Immuser. intraper.	nach 18 St.	$\frac{1}{10}$ Tr.	Kultur subcutan	lebt			
„ 64	0,1	„				„	„	„	
„ 65	0,05	„				„	„	„	
„ 66	0,01	„				„	„	„	
Maus 67	0,2 ccm	beh. Immuser. intraper.	nach 18 St.	$\frac{1}{10}$ Tr.	Kultur subcutan	lebt			
„ 68	0,1	„				„	„	„	
„ 69	0,05	„				„	„	„	
„ 70	0,01	„				„	„	„	
Maus 71	0,2 ccm	Normalser. intraper.,	nach 18 Std.	$\frac{1}{10}$ Tr. Kultur	subcutan				
„ 72	0,2	„	„	18	„	„			

(Kontrollen) sterben nach weniger als 18 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 5. Passage vorgenommen.

Dieser Versuch steht in voller Übereinstimmung mit den früheren, und zeigt, eine wie verschiedenartige Wirkung das mit Bakterien behandelte Immuserum bei örtlich und zeitlich verschiedener Applikation ausübt.

Im folgenden Versuch sollte untersucht werden, ob das behandelte Immuserum seine Schutzkraft verloren hat bei gleichzeitiger und subkutaner Infektion.

Versuch IX.

Maus 73	0,2 ccm	Immunsersum	+ $\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur	subcutan	lebt
„ 74	0,1	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	„
„ 75	0,05	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	„
„ 76	0,01	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	„
Maus 77	0,2 ccm	beh. Immunsers.	+ $\frac{1}{10}$	Tr. K.	subcut.	lebt
„ 78	0,1	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	stirbt nach 4 Tg. typisch
„ 79	0,05	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	lebt
„ 80	0,01	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	lebt
Maus 81	0,2 ccm	Normalserum	+ $\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur	subcutan	
„ 82	0,2	„	„	+ $\frac{1}{10}$	„ „	
(Kontrollen) sterben nach weniger als 18 Stunden.						
Maus 83	0,2 ccm	Immunsersum subcutan	nach 18 Stdn.	$\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur	subcutan lebt
„ 84	0,1					
„ 85	0,05					
„ 86	0,01					
Maus 87	0,2 ccm	behandelt. Imm.-Ser. subcutan	nach 18 Stdn.	$\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur	subcutan lebt
„ 88	0,1					
„ 89	0,05					
„ 90	0,01					
Maus 91	(Kontrolle) 0,2 ccm Normalserum subcutan					nach 18 Stunden
$\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur subcutan,					stirbt nach 28 Stunden.
Maus 92	(Kontrolle) 0,2 ccm Normalserum subcutan					nach 18 Stunden
$\frac{1}{10}$	Tropfen Kultur subcutan,					stirbt nach 22 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 6. Passage vorgenommen.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß das behandelte Immunsersum, wenn es gleichzeitig mit der Infektion injiziert wird, und wenn letztere von der Subcutis aus vorgenommen wird, bei weitem nicht in dem Maße abgeschwächt wird, wie bei intraperitonealer Infektion. Daß eine Abschwächung des behandelten Serums vorhanden ist, beweist Maus 78, welche allerdings verspätet an Hühnercholera gestorben ist. Wenn auch die Mäuse mit den geringeren Serumdosen am Leben geblieben sind, so deutet der Tod bei Maus 78 doch darauf hin, daß das Serum abgeschwächt ist, da bei einem so wirksamen Serum, wie das in diesen Versuchen verwendete, eine Infektion bei einem mit Serum behandelten Tier nie vorkommt.

Es war nun von Interesse, zu untersuchen, wie sich das v o r z e i t i g injizierte behandelte Serum bei intraperitonealer Infektion verhält.

Versuch X.

2 ccm Immuns Serum werden, wie früher beschrieben wurde, mit Hühnercholerabakterien behandelt.

Maus 93	0,2 ccm Immuns. + 0,001 ccm Kultur intraper.	lebt
„ 94	0,1 „ „ + 0,001 „ „ „	„
„ 95	0,05 „ „ + 0,001 „ „ „	„
„ 96	0,01 „ „ + 0,001 „ „ „	stirbt n. 30 St. typisch.
Maus 97	0,2 ccm beh. Imm.-Ser. + 0,001 ccm Kultur intraper.	stirbt n. 8 St.
„ 98	0,1 „ „ „ + 0,001 „ „ „	„ „ 10 „
„ 99	0,05 „ „ „ + 0,001 „ „ „	„ „ 9 „
„ 100	0,01 „ „ „ + 0,001 „ „ „	„ „ 8 „
Maus 101 (Kontrolle)	0,2 ccm Normalserum + 0,001 ccm Kultur intraperit.	stirbt nach 8 Stunden.
Maus 102 (Kontrolle)	0,2 ccm Normalserum + 0,001 ccm Kultur intraperit.	stirbt nach 10 Stunden.
Maus 103	0,2 ccm } Imm.-Ser. subcutan	{ nach 18 St. 0,001 ccm Kultur intraperitoneal lebt
„ 104	0,1 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „
„ 105	0,05 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „
„ 106	0,01 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „
Maus 107	0,2 ccm } behandel. Imm.-Ser. subcutan	{ nach 18 St. 0,001 ccm Kultur intrap. lebt
„ 108	0,1 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „
„ 109	0,05 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „ stirbt n. 42 St.
„ 110	0,01 „ „ }	{ „ 18 „ 0,001 „ „ „ „ „ 40 „

In der Bauchhöhle neben massenhaften Leukozyten spärliche Bazillen.

Im Blute mikroskopisch 0.

Maus 111 0,2 ccm Normalser. subcut. nach 18 St. 0,001 ccm Kultur intraper. stirbt nach 7 Stunden

Maus 112 0,2 ccm Normalser. subcut. nach 18 St. 0,001 ccm Kultur intraper. stirbt nach 18 Stunden

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 7. Passage vorgenommen.

Wir entnehmen diesem Versuche, daß auch bei intraperitonealer Infektion das behandelte Immuns Serum, welches bei gleichzeitiger Infektion keine Schutzwirkung aufweist, wirksam ist, wenn es vor der Infektion injiziert wird. Allerdings merken wir hier eine deutliche, wenn auch geringe Abschwächung, denn man darf nicht außer acht lassen, daß eine Lebensdauer von über 40 Stunden auf eine starke Resistenz hinweist, wenn die Kontrollen nach weniger als 10 Stunden sterben. Auch deutet der Infektionsverlauf der Tiere auf eine deutliche Schutzwirkung der Serums hin, da ja bei der normal verlaufenden Infektion vom Peritoneum aus Zellen in der Peritonealhöhle völlig fehlen, dieselbe hingegen von

einer Unmasse Bakterien erfüllt ist, welche auch im Herzblut mühelos — ca. 10 bis 20 im Gesichtsfeld — aufzufinden sind; bei diesen Tieren (109, 110) jedoch ist die Bauchhöhle eitrig, außerdem finden sich nur sehr wenige ganz degenerierte Bakterien, und letztere fehlen mikroskopisch im Blute überhaupt.

Beifolgend ist ein Versuch wiedergegeben, welcher den Infektionsverlauf bei subkutaner und intraperitonealer Infektion zeigt, wobei das native und behandelte Serum sowohl gleichzeitig als auch vorzeitig angewendet wurde.

Versuch XI.

Das Immunserrum wird wie im vorigen Versuche behandelt.

Maus 113	0,1 ccm	behandel. Imm.-Ser. intraperit.	(nach 18 St. $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan	lebt
„ 114	0,07 „			„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
„ 115	1,05 „			„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
„ 116	0,01 „			„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
Maus 117	0,2 ccm	Normal- serum intraperit.	(nach 18 St. $\frac{1}{10}$ Tr. Kultur subcut. stirbt n. 18 St.	
„ 118	0,1 „			„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „ 25 „
„ 119	0,05 „			„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „ 26 „
(Kontrollen)				
Maus 120	0,2 ccm Immunserr. intraperit.	+ 0,0001 ccm Kultur intraperit.	lebt	
„ 121	0,1 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
„ 122	0,05 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
„ 123	0,01 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
Maus 123	0,2 ccm beh. Immunserrum	+ 0,0001 ccm Kultur intraperit.	lebt	
„ 124	1,1 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
„ 125	0,05 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
„ 126	0,01 „ „ „	+ 0,0001 „ „ „ „	„	
Maus 127	0,2 ccm Normalser. + 0,0001 ccm Kultur intraperit.	stirbt n. 21 St.		
„ 128	0,2 „ „ + 0,0001 „ „ „ „	„ „ „ „ 18 „		
Maus 120—128 sind sehr klein.				
Maus 129	0,2 ccm Immunserrum	+ $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan	lebt	
„ 130	0,1 „ „ „	+ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„	
„ 131	0,05 „ „ „	+ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„	
„ 132	0,01 „ „ „	+ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„	
Maus 132	0,2 ccm beh. Imm.-Ser. + $\frac{1}{10}$ Tr. Kult. subcut.	stirbt nach 48 St.		
„ 133	0,1 „ „ „ + $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„ „ „ „ 62 „		
„ 134	0,05 „ „ „ + $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„ „ „ „ 48 „		
„ 135	0,01 „ „ „ + $\frac{1}{10}$ „ „ „ „	„ „ „ „ 64 „		

Sämtliche Tiere an der Injektionsstelle starkes eitriges Infiltrat mit Bazillen.

Maus 136	0,2 ccm	Normalserum	+ $\frac{1}{10}$ Tr. Kult.	subcutan	stirbt nach 21 St.
„ 137	0,2 „	„	+ $\frac{1}{10}$ „ „	„ „	„ st. n. weniger als 18 „
Maus 138	0,2 ccm	Immunserum	+ 0,001 ccm	Kultur intraperitoneal	lebt
„ 139	0,05 „	„	+ 0,001 „ „	„ „	„ „
Maus 140	0,2 ccm	beh. Imm.-Ser.	+ 0,001 ccm	Kult. intraper.	stirbt n. 6 St.
„ 141	0,1 „	„ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „ 7 „
Maus 141	0,2 ccm	Normalserum	+ 0,001 ccm	Kultur intraper.	stirbt n. 8 St.
„ 142	0,2 „	„	+ 0,001 „ „	„ „	„ „ 7 „

In diesem Versuche wurde die Infektion mit Passage 10 vorgenommen.

Der Ausgang dieses Versuches unterscheidet sich insofern von den früheren, als hier die gleichzeitig mit behandeltem Serum intraperitoneal infizierten Mäuse 123 bis 126 am Leben geblieben sind. Dies ist darauf zurückzuführen, daß wir diese Tiere, weil sie sehr klein waren, mit der zehnfach geringeren als üblichen Dosis infiziert haben, und zwar mit einer Dosis, welcher die Kontrollen nicht in 6 bis 12 Stunden, sondern in 18 bzw. 21 Stunden erlagen. Wie wir später sehen werden, ist dieser Umstand von Wichtigkeit. Daß der Einwand, dieses Serum wäre nicht genügend erschöpft, keine Berechtigung hat, beweisen die Tiere 140 und 141, wo die Infektion mit der üblichen Dosis vorgenommen wurde, ferner die Mäuse 132 bis 135, da selbst bei subcutaner Infektion die gleichzeitig mit dem behandelten Serum infizierten Tiere erlegen sind. Allerdings zeigt sich die bedeutendere Resistenz erstens an der langen Lebensdauer und dann am Befunde an der Infektionsstelle, wo bei nicht geschützten Tieren niemals eine Reaktion auftritt, während hier eine starke Eiterung vorhanden ist. Die dieser Gruppe entsprechenden vorzeitig injizierten Mäuse (113 bis 146) sind in Übereinstimmung mit den früheren Versuchen am Leben geblieben.

Wir haben schließlich noch einen Versuch angestellt, um festzustellen, ob die bei auch nachträglicher intraperitonealen Infektion unzweifelhaft vorhandene Abschwächung des behandelten Serums verschwindet bei Infektion mit einer geringeren Bakteriendosis.

Versuch XII.

Das behandelte Immunserum stammt vom vorhergehenden Versuche.

Maus 143	0,2 ccm	Imm.-Ser.	subcut.	nach 18 St.	0,002 ccm	Kult. intrap.	lebt
„ 144	0,1 „	„	„	„ 18 „	0,002 „	„ „	„ „
„ 145	0,05 „	„	„	„ 18 „	0,002 „	„ „	„ „
„ 146	0,01 „	„	„	„ 18 „	0,002 „	„ „	„ „

Maus 147	0,2 ccm	behandelt. Imm.-Ser. subcutan	nach 18 St.	0,002 ccm Kultur intrap.	lebt
„ 148	0,1 „		„ 18 „	0,002 „ „ „	„
„ 149	0,05 „		„ 18 „	0,002 „ „ „	„
„ 150	0,01 „		„ 18 „	0,002 „ „ „	stirbt n. 48 St.

Mit spärlichen Bazillen. Im Blute mikroskopisch nichts zu sehen.

Maus 151 0,2 ccm Normalser. subcut. nach 18 St. 0,002 ccm Kultur intraper. stirbt nach 12 Stunden.

Maus 152 0,2 ccm Normalser. subcut. nach 18 St. 0,002 ccm Kultur intraper. stirbt nach weniger als 18 Stunden. Nach 12 St. schon moribund.

Maus 153	0,2 ccm	Imm.-Ser. subcutan	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intraperitoneal	lebt
„ 154	0,1 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 155	0,05 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 156	0,01 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„

Maus 157	0,2 ccm	behandelt. Imm.-Ser. subcutan	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intraperit.	lebt
„ 158	0,1 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 159	0,05 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 160	0,01 „		„ 18 „	0,0001 „ „ „	„

Maus 161	0,2 ccm	Normalser. subcutan	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intraper.	sterben nach weniger als 18 Stunden
„ 162	0,2 „		„ 18 „	0,00001 „ „ „	
„ 163	0,2 „		„ 18 „	0,000001 „ „ „	
„ 164	0,2 „		„ 18 „	0,0000001 „ „ „	
„ 165	0,2 „		„ 18 „	0,00000001 „ „ „	

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 11. Passage vorgenommen.

Wir sehen, daß bei Infektion mit einer Dosis, welche die Tiere nicht in so unglaublich kurzer Zeit wie 7 bis 12 Stunden tötet, und die immer noch die vieltausenfach tödliche Menge darstellt, auch bei intraperitonealer Infektion das vorzeitig gegebene behandelte Immuserum keine Abschwächung zeigt.

Aus den bisher mitgeteilten Versuchen geht zur Genüge hervor, daß ein Hühnercholera-Immuserum, welches durch Bakterienbehandlung seine Schutzwirkung gegenüber einer gleichzeitig mit der Immunisierung erfolgten intraperitonealen Infektion vollkommen verliert, vollen Schutz entfaltet, wenn es einige Zeit vor der Infektion injiziert und die nachträgliche Infektion von der Subcutis aus vorgenommen wird. Jedoch zeigt auch das vorzeitig injizierte behandelte Immuserum, wenn die nachträgliche Infektion intraperitoneal erfolgt, eine Abschwächung, die allerdings im Vergleiche zu vollkommener Wirkungslosigkeit des gleichzeitig mit der intraperitonealen Infektion injizierten behandelten Immun-

serums sehr gering und unregelmäßig¹⁾ ist. Das gleichzeitig mit der subcutanen Infektion injizierte behandelte Immunserum erweist sich in viel geringerem Grade abgeschwächt als das gleichzeitig mit der intraperitonealen Infektion injizierte.

Diesen Versuchsergebnissen entnimmt man, daß die Ursachen, von denen die verschiedenartige Wirksamkeit des mit Bakterien behandelten Hühnercholera-Immunserums abhängig ist, in erster Linie in der zeitlichen Differenz zwischen Immunisierung und Infektion, ferner in der differenten Örtlichkeit der Infektion liegen. Bei oberflächlicher Betrachtung würde man eine Erklärung dieser Verhältnisse darin finden, daß das Immunserum durch die Bakterienbehandlung nicht vollständig seiner Schutzstoffe beraubt ist, und daß der Rest derselben, vorzeitig gegeben, deshalb wirkt, weil er erst zur Resorption gelangt sein muß, um die überall hin vordringenden Bakterien zu erreichen; im Unterhautzellgewebe, wo die Bakterienvermehrung bei weitem nicht so stürmisch erfolgt wie in der Bauchhöhle, würde dieser Rest ebenfalls noch ausreichen, um die Infektion zu bewältigen. Wir werden erwägen, inwieweit eine derartige Erklärungsweise Berechtigung hat.

Betreffs der Wirkung vorzeitig injizierter Immunsera verdanken wir genaue systematische Untersuchungen P f e i f f e r und F r i e d b e r g e r. Diese beiden Forscher haben Meerschweinchen und Kaninchen homologe und heterologe Choleraimmunsera an den verschiedenen Körperstellen injiziert, und fanden, daß dieselben, insbesondere die heterologen, sehr rasch aus dem Organismus verschwanden. So wies z. B. ein Meerschweinchen, welchem 200 schützende Dosen subkutan injiziert wurden, nach 14 Stunden keine Spur von Schutz gegenüber $\frac{3}{4}$ Ösen Cholera auf. In jüngster Zeit haben U n g e r m a n n und K a n d i b a diese Frage bearbeitet, und festgestellt, daß sie bei zeitlich und örtlich getrennter Infektion und Immunisierung ungemein hohe Dosen brauchten, wenn sie das Immunserum vorzeitig injizierten; so waren gegen 1 Öse 1000 mal und gegen $\frac{1}{20}$ Öse Cholera 400 mal mehr Serum nötig, wenn sie statt gleichzeitig intraperitoneal zu infizieren und immunisieren, das Immunserum drei Stunden früher intravenös und die Kultur

1) Siehe die folgenden Versuche.

intraperitoneal injizierten. Diese mit Cholera ausgeführten Versuche sind deshalb für die vorliegende Frage von Wichtigkeit, weil die gegen Cholera vibrierten wirkenden Antikörper bakterizide Immunkörper sind, und weil auch im Hühnercholera-Immunserrum bakterizide Antistoffe nachweisbar sind und wir gerade die Wirkungsweise dieser studieren wollen. Nun sehen wir, daß dieselben, vorzeitig injiziert, völlig wirkungslos sind, also sich gerade entgegengesetzt verhalten wie die im Hühnercholera-Immunserrum nach der Bakterienbehandlung übrigbleibenden Schutzstoffe. Es ist also klar, daß die Wirkung des behandelten Immunserrums nicht auf einen Rest bakterizider Schutzstoffe zurückzuführen ist. Allerdings könnte man unseren bisherigen Ausführungen entgegenhalten, daß sich die Infektion zwischen Cholera und Hühnercholera nicht miteinander vergleichen läßt, weil die Cholerainfektion nur lokal im Peritoneum sich abspielt, und deshalb bei vorheriger Immunisierung nur der Bruchteil im Peritoneum vorhandener Antikörper wirken kann, während bei Hühnercholera das Immunserrum im ganzen Organismus verbreitet sein muß, weil die infizierenden Bakterien überall hingelangen. Dies ist zweifellos richtig, nur läßt es sich nicht auf die hier vorliegenden Verhältnisse anwenden. Denn wir müssen bedenken, daß wir hier nicht mit einem intakten, sondern mit einem Immunserrum die Tiere behandeln, dem der größte Teil der bei intraperitonealer Infektion wirksamen Antikörper genommen ist. Wir sehen, daß 0,25 ccm, und wie wir uns später überzeugen konnten, selbst 1 ccm unseres behandelten Serums nicht so viel Antikörper besitzt, um bei gleichzeitig erfolgter Infektion die lokale Vermehrung in der Bauchhöhle verhindern zu können, wie sollten dann die Antikörper von 0,1 ccm dieses vorzeitig subcutan injizierten Serums die Vermehrung im Peritoneum aufhalten können, zumal ja nur ein Bruchteil dieser Menge in die Bauchhöhle gelangt? Noch weniger läßt sich die Wirkung des behandelten Hühnercholeraserrums von der Subcutis aus mit einem übriggebliebenen Reste von bakteriziden Immunkörpern erklären, da ja bakterizide Immunkörper am besten im Peritoneum wirken, wohin die kompletierenden Säftebestandteile viel leichter zuströmen können. Es scheint uns ganz ausgeschlossen, daß auch bei

Mikroorganismen, welche, wie der Hühnercholera Bazillus, eine allgemeine Infektion veranlassen, und gegen welche nur bakterizide Immunkörper wirksam sind, diese vorzeitig injiziert, besser schützen als gleichzeitig mit der Infektion; denn auch bei den meisten dieser Mikroorganismen, insbesondere beim Hühnercholera Bazillus, erfolgt die erste und stärkste Vermehrung am Infektionsorte, und es müßte sich ein bakterizides Immunserum am besten bewähren, wenn es gleichzeitig mit eingespritzt wird und an Ort und Stelle die infizierenden Bakterien abtötet. Denn vorher gegeben, wird, ganz abgesehen davon, daß nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Friedberger der größte Teil nach kurzer Zeit verschwindet, wird nur ein geringer Teil an den Infektionsort gelangen, und wenn dieser daselbst zur Vernichtung der vorhandenen Keime nicht ausreicht, so wird infolge der daselbst unausgesetzt vor sich gehenden Vermehrung die Wirkung der zur allgemeinen Resorption gelangten Immunkörper bald erschöpft sein. Wir glauben, daß es nach alledem einleuchtend ist, daß die Schutzwirkung des vorzeitig injizierten behandelten Serums nicht auf die Anwesenheit der nicht vollkommen entfernten Immunkörper zurückzuführen ist. Wem jedoch dies nicht überzeugend scheint, der möge Versuche anstellen mit einem Immunserum, dessen Wirkung nur auf die bekannten durch Bakterien absorbierbare Antikörper zurückzuführen ist. Geeignet erscheint hier das Streptokokken-Immunserum, welches nach unseren neueren Untersuchungen nur den phagozytosebefördernden Stoffen seine Schutzwirkung verdankt. Da das Serum Aronsohn ungemein wirksam ist, der hierzu gehörige Streptokokkenstamm eine sehr hohe Virulenz aufweist, so lassen sich die mit dem Hühnercholera-Immunserum analogen Versuche leicht ausführen. Das nun mit Bakterien behandelte Streptokokken-Immunserum hat seine Schutzkraft verloren, ganz gleichgültig ob es subkutan oder intraperitoneal, gleichzeitig mit oder vor der Infektion injiziert wird. Die hier kurz angeführten Streptokokkenversuche zeigen, daß auch die phagozytosebefördernden Immunkörper, wie zu erwarten war, von den Bakterien gebunden werden, und daß ihre Wirkung bei vorzeitiger Injektion sicherlich keine bessere ist als bei gleichzeitig mit der Infektion ausgeführten. Dies scheint uns

deshalb von Wichtigkeit, weil wir immerhin doch dem Einwand begegnen müssen, daß ein Teil der im Hühnercholeraserum wirkenden Schutzstoffe nicht bakterizider sondern opsonischer Natur seien, was jedoch, wie wir oben dargelegt haben, nicht viel Wahrscheinlichkeit besitzt.

So drängen uns die bisherigen Versuche und Erwägungen zu der Annahme, daß im Hühnercholera-Immunserum zwei verschiedenartige Schutzstoffe in Aktion treten, und zwar diejenigen, welche bei gleichzeitig mit der Immunisierung erfolgten Infektion insbesondere vom Peritoneum aus wirken und welche durch Bakterienbehandlung sich spezifisch erschöpfen lassen, ferner diejenigen, welche, einige Zeit vor der Infektion injiziert, schützen und welche von Bakterien entweder gar nicht oder ungleich viel schwächer als erstere gebunden werden.

Es fragt sich nun, ob sich die beiden verschiedenartigen Schutzstoffe des Hühnercholera-Immunserums mit den bereits bekannten identifizieren lassen. Die bisher bekannten bzw. anerkannten antiinfektiösen Immunkörper sind die phagozytosebefördernden und die Bakteriolyse, und wir haben gesehen, daß letztere im Hühnercholeraserum nachweisbar sind, während die Wirkung ersterer, wenn sie auch im Reagenzglase nachweisbar wären¹⁾, im Tierkörper sehr unwahrscheinlich ist. Es ist jedoch auch eine andauernde Wirkung der bakteriziden Immunkörper beim Tier auszuschließen, was ja, worauf bereits wiederholt hingewiesen wurde, am besten aus dem langen Verweilen lebender Bakterien im Organismus hervorgeht. Damit ist aber nicht gesagt, daß es nicht doch an günstige Stellen des Tierkörpers wenigstens zu einer momentanen bakteriziden Wirkung dieser Immunstoffe kommen kann. Daß dies in der Tat der Fall ist, glauben wir aus unseren Versuchen schließen zu dürfen. Dringen die Hühnercholeraabazillen in einen Organismus, welcher wie der der Maus jeglicher bakterizider Hilfsmittel bar ist, und außerdem noch an einen Ort, wo sie sich, wie im Peritoneum, aus mechanischen Gründen leicht vermehren können, so erfolgt binnen ganz kurzer Zeit (bei der Infektion mit 0,001 ccm in 7 bis

1) Wir konnten uns von deren Vorhandensein gegen unseren Stamm nicht mit Sicherheit überzeugen.

12 Stunden) der Tod infolge der stürmischen Vermehrung, die diese Bakterien an Ort und Stelle erfahren und die zu einer Überschwemmung des gesamten Körpers führt. Erst wenn die Infektionsdosis geringer ist oder wenn die Infektion von der Subcutis aus vorgenommen wird, erfolgt die Vermehrung nicht so rapide und die Tiere leben 18 bis 24 Stunden. Wird nun das intakte Hühnercholera-Immuserum gleichzeitig mit den Bakterien in die Bauchhöhle injiziert, so werden die bakteriziden Immunkörper des ersteren einen Teil der Keime abtöten und ihre Zahl so weit vermindern, daß es nicht zu der sofort einsetzenden stürmischen Vermehrung kommen kann. Die Abtötung der Bakterien ist sicher keine vollkommene, was man sehr leicht nachweisen kann, aber der Grund, daß sich die am Leben gebliebenen Keime nicht nachträglich vermehren und eine Infektion veranlassen, ist der, daß inzwischen die zweite Immunserumkomponente in Kraft tritt. Denn diese vermag, wenn ihr nur einige Zeit zur Verfügung steht, auf den Organismus einzuwirken, ganz unabhängig und ohne die von den Bakterien absorbierbaren bakteriziden Immunkörper zu wirken. Diese Zeit gewinnt die zweite Komponente dadurch, daß die Bakteriolyse die Zahlen der Keime so stark herunterdrücken, daß sie nicht momentan zur Vermehrung gelangen. Die verlangsamte Vermehrung von der Subcutis aus ist auch der Grund, wes halb von hier aus das der Bakteriolyse beraubte Hühnercholera-Immuserum bei weitem nicht so abgeschwächt erscheint wie von der Bauchhöhle aus, weil in der Subcutis offenbar die Wirkung der bakteriziden Serumstoffe eine viel geringere ist. Wird jedoch das der bakteriziden Immunstoffes beraubte Serum mit den Bakterien zusammen intraperitoneal injiziert, so verhalten sich die Bakterien zunächst wie in einem normalen Tiere, da die zweite Serumkomponente nicht sofort in Aktion tritt. Die Bakterien werden sich vom Momente der Infektion an vermehren, und ihre Zahl wird zu der Zeit, die verstreichen muß, um die zweite Komponente zu aktivieren, bereits eine so große sein, daß die Schutzwirkung dieser nicht mehr ausreicht. Neben den bereits geschilderten Eigenschaften (bessere Wirkung bei vorzeitiger Injektion, nur fehlende Affinität zu dem Bakterienleiter) ist auch ein Hauptcharakteristikum der zweiten Komponente, daß sie auf

die Bakterien nicht abtötend wirkt, sondern ihre Vermehrungsfähigkeit, ihre Aggressivität, in Schranken hält. Diese zweite Komponente ist der antiaggressive Anteil des Hühnercholera-Immunserrums.

Wenn wir schließlich von den hier erörterten Gesichtspunkten aus die zwar geringe aber immerhin vorhandene Abschwächung des vorzeitig injizierten behandelten Immunserrums gegenüber der intraperitonealen Infektion zu erklären versuchen, so kämen hierfür zwei Momente in Betracht. Einmal wäre es möglich, daß durch intensive Bakterienbehandlung doch ein Teil der antiaggressiven Schutzstoffe entfernt wird, was sich im Peritoneum, wo der Hühnercholera-Bazillus seine Aggressivität am stärksten entfalten kann, am ehesten zeigen würde. Selbst wenn dies der Fall wäre, so würde dadurch unsere Auffassung von der prinzipiellen Differenz der antiaggressiven und bakteriziden Immunkörper kein Abbruch getan, da sich diese beiden Immunstoffe trotzdem auch durch Bakterienbehandlung leicht differenzieren ließen. Es wäre aber noch eine zweite Möglichkeit vorhanden, nämlich die, daß dort, wo die Bedingungen für die Bakterienvermehrung am günstigsten sind, wie im Peritoneum, die Grenzdosen der antiaggressiven Stoffe durch die Mitwirkung der bakteriziden Immunkörper auch in noch so geringer Menge unterstützt werden. Dies scheint uns auch sehr wahrscheinlich, insbesondere wenn wir den Infektionsverlauf der betreffenden Tiere (109, 110, 150) beobachten. Es handelt sich hierbei offenbar aus dem oben erörterten Grunde um eine langsame und lokale Vermehrung, welche nicht so empfindliche Tiere wie Mäuse leicht vertragen (Phänomen der nachträglichen Vermehrung bei immunisierten Meerschweinchen).

Es war von Interesse, zu untersuchen, ob es nicht noch auf einem anderen Wege gelingt, die beiden Komponenten des Hühnercholera-Immunserrums nachzuweisen. Wir konnten in früheren Versuchen öfters die Beobachtung machen, daß Hühnercholera-Immunserra, welche, gleichzeitig mit der Infektion injiziert, nicht schützten, schutzverleihend wirkten, wenn sie vorzeitig injiziert wurde. Da wir jetzt wissen, daß an dem gleichzeitigen Schutz die bakteriziden Immunkörper mitbeteiligt sind, so war es mög-

lich, daß diese bei den oben erwähnten schwach wirksamen Seris fehlten. Um dies zu prüfen, haben wir ein Kaninchen mit einer einzigen Injektion von 5 cem Aggressin subcutan behandelt, ihm nach zehn Tagen Blut entnommen und das Serum auf seine Schutzwirkung geprüft.

Versuch XIII.

Dieses Immuserum II. wurde wie in den früheren Versuchen mit Bakterien behandelt.

Maus 166	0,2 cem	Imm.-S. II	+ 0,001 cem	Kultur intrap.	stirbt nach 12 St.
.. 167	0,1	..	+ 0,001 32 ..
.. 168	0,05	..	+ 0,001 15 ..
.. 169	0,025	..	+ 0,001 8 ..
Maus 170	0,2 cem	beh. I.-S. II	+ 0,001 cem	Kultur intrap.	stirbt nach 8 St.
.. 171	0,1	+ 0,001 9 ..
.. 172	0,05	+ 0,001 8 ..
.. 173	0,025	+ 0,001 12 ..
Maus 174 (Kontrolle)	0,2 cem	N.-S.	+ 0,001 cem	K. intrap.	stirbt nach 6 St.
.. 175	..	0,2 ..	+ 0,001 7½ ..
Maus 176	0,2 cem	Imm.-S. II	subc. nach 18 St.	0,001 cem Kult. intrap.	lebt
.. 177	0,1 18 ..	0,001
.. 178	0,05 18 ..	0,001
.. 179	0,025 18 ..	0,001 stirbt
nach 32 Stunden mit massenhaften Leukozyten und einzelnen Bakterien.					
Maus 180	0,2 cem	beh. I.-S. II	subc. nach 18 St.	0,001 cem Kult. intrap.	lebt
.. 181	0,1 18 ..	0,001
.. 182	0,05 18 ..	0,001 stirbt
nach 36 Stunden mit massenhaft Eiter und wenigen Bazillen.					
Maus 183	0,025 cem	beh. I.-S. II	subc. n. 18 St.	0,001 cem Kult. intrap.	lebt (1)
Maus 184	0,2 cem	} beh. Imm.- Serum II subcutan	} n. 18 St. 0,005 cem	} Kult. intrap.	} lebt
.. 185	0,1				
.. 186	0,05				
.. 187	0,025				
Maus 188	0,2 cem	} Normal- serum subcutan	} n. 18 St. 0,001 cem	} Kult. intrap.	} stirbt n. weniger
.. 189	0,2				
.. 190	0,2				
.. 191	0,2				
Maus 192	0,1 cem	Immuserum II	+ 0,001 cem	Kultur subcutan	lebt
.. 193	0,1	+ 0,0001
.. 194	0,1	+ 0,00001
.. 195	0,1	+ 0,000001
Maus 196	0,1 cem	beh. Immuserum II	+ 0,001 cem	Kultur subcutan	lebt
.. 197	0,1	+ 0,0001
.. 198	0,1	+ 0,00001
.. 199	0,1	+ 0,000001

Maus 200	Kontrollen	0,1 ccm Normalserum	+ 0,001 ccm Kult.	subcut.	stirbt n.	18 St.
„ 201	„	„	+ 0,0001 „	„	„	32 „
„ 202	„	„	+ 0,00001 „	„	„	25 „
„ 203	„	„	+ 0,000001 „	„	„	24 „

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 13. Passage vorgenommen.

Wir sehen, daß das Immunserum, welches von einem wenig vorbehandelten Tiere stammt, nicht die Fähigkeit besitzt, gegen die hier angewendete Bakterienmenge vom Peritoneum aus zu schützen, wenn die Infektion gleichzeitig mit der Immunisierung vorgenommen wird, während es bei vorzeitiger Immunisierung prompt wirkt. Es verhält sich also dieses Immunserum wie unser früheres, nachdem es durch Bakterienbehandlung der bakteriziden Immunkörper beraubt war. Dies weist darauf hin, daß unser jetziges Immunserum bakterizide Immunkörper entweder gar nicht oder nur in geringen Mengen besitzt, und zwar deshalb, weil sich die bakteriziden Immunkörper erst nach intensiverer Behandlung in größerer Menge bilden. Dies ist auch der Grund, weshalb hier der Effekt der Bakterienbehandlung nicht so klar zutage tritt. So bleibt sogar Maus 183 mit der geringsten Dosis des behandelten Immunserums am Leben, während Maus 179, das entsprechende Tier mit dem nativen Serum, stirbt. Selbst gegenüber der höheren Infektionsdosis ist nur eine ganz geringe Abschwächung vorhanden (Maus 186). Wir sehen weiter, daß die gleichzeitig mit dem behandelten Serum subcutan infizierten Mäuse vollkommen geschützt sind.

Wir haben noch eine Reihe von Versuchen mit einem Immunserum angestellt, welches von einem Kaninchen stammt, das durch vier subkutane Injektionen von je 7,5 ccm Aggressin behandelt wurde, und welches gegen eine gleichzeitige intraperitoneale Infektion mit 0,001 ccm Kultur in der Dosis von 0,1 ccm schützte, also ungefähr zehnmal so schwach war wie unser erstes Immunserum.

Versuch XIV.

Maus 204	0,25 ccm Immunserum III	+ 0,01 ccm Kultur	subcutan	lebt
„ 205	0,1 „	+ 0,01 „	„	„
„ 206	0,05 „	+ 0,01 „	„	„

Maus 207	0,25 ccm beh.	Immuserum III	+ 0,01 ccm Kultur	subcutan	lebt
„ 208	0,1 „ „	„	+ 0,01 „ „	„ „	„ „
„ 209	0,05 „ „	„	+ 0,01 „ „	„ „	stirbt
nach 2½ Tagen, mit Pericarditis und Pleuritis durch Hühnercholera hervorgerufen.					
Maus 210 (Kontrolle)	0,25 ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur	subcutan		
stirbt nach 15 Stunden.					
Maus 211 (Kontrolle)	0,25 ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur	subcutan		
stirbt nach 15 Stunden.					
Maus 212	0,25 ccm Imm.-S.	intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kultur	subcutan lebt
„ 213	0,1 „ „	„ „	9 „	0,01 „ „	„ „
„ 214	0,05 „ „	„ „	9 „	0,01 „ „	„ „
Maus 215	0,25 ccm beh. I.-S.	intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kultur	subcut. lebt
„ 216	0,1 „ „	„ „	9 „	0,01 „ „	„ „
„ 217	0,05 „ „	„ „	9 „	0,01 „ „	„ „
Maus 218 (Kontrolle)	0,25 ccm N.-S.	intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kult.	subcut. stirbt nach 15 Stunden.
Maus 219 (Kontrolle)	0,25 ccm N.-S.	intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kult.	subcut. stirbt nach 15 Stunden.
Maus 220	0,5 ccm Immuserum	+ 0,001 ccm Kultur	intrapertoneal		lebt
„ 221	0,25 „ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „	„ „
„ 222	0,1 „ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „	„ „
Maus 223	0,5 ccm beh. I.-Ser.	+ 0,001 ccm Kultur	intrap.		stirbt nach 10 St.
„ 224	0,25 „ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „	„ 11 „
„ 225	0,1 „ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „	„ 10 „
Maus 226	0,5 ccm Normalser.	+ 0,001 ccm Kultur	intrapert.		stirbt nach 7 St.
„ 227	0,5 „ „	+ 0,001 „ „	„ „	„ „	„ 9 „

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 14. Passage vorgenommen.

Diesem Versuche entnimmt man, daß auch das schwächer wirksame Immuserum sich genau so verhält wie unser stark wirksames, indem es durch die Bakterienbehandlung gegenüber der gleichzeitigen intraperitonealen Infektion vollkommen erschöpft ist (Maus 223 bis 225), während seine Schutzkraft bei der gleichzeitigen subcutanen Infektion nur ganz wenig verringert ist (Maus 209), vollständig erhalten dagegen ist sie gegenüber der subcutanen Infektion, wenn das Immuserum vorzeitig (in diesem Versuche nur neun Stunden früher) injiziert ist (Maus 215 bis 217).

Es war noch das Verhalten des Immuserums gegenüber einer höheren Infektionsdosis, insbesondere von der Subcutis aus, zu prüfen, da dieses Serum vom Peritoneum aus schwächer wirkt. Ins-

besondere war zu entscheiden, wie sich bei einer stärkeren Infektion das vorzeitig und gleichzeitig injizierte Serum verhält. Es war von vornherein zu erwarten, daß bei einer massiveren Dosis die Abschwächung des gleichzeitig injizierten Immunserums vom Subcutangewebe aus eine starke sein wird, dann war es interessant, zu sehen, ob das vorzeitig injizierte Serum nicht doch auch, ähnlich wie im Peritoneum, in seiner Wirkung verringert ist.

Versuch XV.

Behandlung des Immunserums III, wie in den früheren Versuchen.

Maus 228	0,1 ccm Immunserum III	+ 0,25 ccm Kultur subcutan	lebt
„ 229	0,1 „	+ 0,1 „	„
„ 230	0,1 „	+ 0,01 „	„
Maus 231	0,1 ccm beh. I.-S. III	+ 0,25 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 29 St.
„ 232	0,1 „	+ 0,1 „	„ 48 „
„ 233	0,1 „	+ 0,01 „	lebt
Maus 234 (Kontrolle)	0,1 ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 15 Stunden.
Maus 235 (Kontrolle)	0,1 ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 16 Stunden.
Maus 236	0,1 ccm I.-S. III intrap.	nach 9 St. 0,25 ccm Kultur subcutan	lebt
„ 237	0,1 „	„ 9 „ 0,1 „	„
„ 238	0,1 „	„ 9 „ 0,01 „	„
Maus 239	0,1 ccm beh. I.-S. III intrap.	nach 9 St. 0,25 ccm Kult. subcut.	lebt
„ 240	0,1 „	„ 9 „ 0,1 „	„
„ 241	0,1 „	„ 9 „ 0,01 „	„
Maus 242	0,1 ccm Normalserum intrap.	nach 9 St. 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 15 Stunden.
Maus 243	0,1 ccm Normalserum intrap.	nach 9 St. 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 15 Stunden.
Maus 244	0,5 ccm beh. I.-S. III	+ 0,001 ccm Kult. intrap.	stirbt nach 13 St.
„ 245	0,2 „ unbeh. I.-S.	+ 0,001 „	lebt

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit Passage 15 vorgenommen.

Gegen eine wie große Bakterienmenge das Immunserum schützt, zeigt dieser Versuch, auch geht aus ihm hervor, daß gegen eine große Infektionsdosis auch von der Subcutis die Abschwächung des gleichzeitig mit der Infektion injizierten behandelten Immunserums eine stärkere (Maus 231, 232) ist. Aber selbst gegenüber dieser enormen Infektion weist das vorzeitig injizierte behandelte Immunserum

vollen Schutz auf (Maus 239 bis 241). Daß das Immunserum vom Peritoneum aus durch die Behandlung unwirksam geworden ist, zeigt Maus 244.

Wir sind bei der Erklärung des Versagens des behandelten Immunserums bei gleichzeitiger Infektion von der Annahme ausgegangen, daß die in größerer Menge injizierten Bakterien sich infolge des Fehlens jeglicher bakteriziden Stoffe sich sofort vermehren, und die Vermehrung zu der Zeit, wo die antiaggressive Komponente in Aktion tritt, schon zu weit fortgeschritten ist, und diese daher nichts mehr vermag. Ist diese Vorstellung richtig, so müßte gegenüber geringen Bakterienmengen, welche sich nicht so rasch vermehren, daß sie den Tod der Tiere binnen 6 bis 12 Stunden bewirken, auch das behandelte Immunserum bei gleichzeitiger Infektion vom Peritoneum aus schützen.

Versuch XVI.

Maus 244	0,2 ccm	behandeltes I.-Serum III	+ 0,001 ccm	Kultur intra- peritoneal	stirbt nach weniger als 12 St.	
„ 245	0,2 „		+ 0,0001 „			„ „ „ „ 12 „
„ 246	0,2 „		+ 0,000001 „			„ „ „ „ 12 „
„ 247	0,2 „		+ 0,0000001 „			„ „ 21 Stunden.
„ 248	0,2 „		+ 0,00000001 „			lebt.
Maus 249	0,25 ccm	Normal- serum	+ 0,00001 ccm	Kultur intra- perit.	stirbt nach weniger als 12 St.	
„ 250	0,25 „		+ 0,000001 „			„ „ „ „ 12 „
„ 251	0,25 „		+ 0,0000001 „			„ „ „ „ 12 „
„ 252	0,25 „		+ 0,00000001 „			„ „ 23 Stunden.

Maus 253 0,25 ccm Immunserum III + 0,001 ccm Kultur intraperitoneal lebt
Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 16. Passage vorgenommen.

Versuch XVII.

Das behandelte Immunserum stammt vom vorigen Versuche.

Maus 254	1 ccm	behandeltes I.-Serum III	+ 0,001 ccm	Kultur intraperit.	stirbt nach 24 St.	
„ 255	0,25 „		+ 0,001 „			„ „ „ „ 8 „
„ 256	0,25 „		+ 0,00001 „			„ „ „ „ 20 „
„ 557	0,25 „		+ 0,000001 „			„ „ „ „ 15 „
„ 258	0,25 „		+ 0,0000001		lebt.	
Maus 259	0,25 ccm beh. I.-S. II	subc. nach 18 St.	0,001 ccm Kult. intrap.	lebt		
„ 260	0,25 „ „	„ „ „ 18 „	0,00001 „ „	„ „		
„ 261	0,25 „ „	„ „ „ 18 „	0,000001 „ „	„ „		
„ 262	0,25 „ „	„ „ „ 18 „	0,0000001 „ „	„ „		
Maus 263 (Kontr.)	0,25 ccm Norm.-S.	subc. nach 18 St.	0,00001 ccm K. intrap.	stirbt nach weniger als 15 Stunden.		

372 Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immunserrums.

Maus 264 (Kontr.) 0,25 ccm Norm.-S. subc. nach 18 St. 0,000001 ccm K. intrap. stirbt nach weniger als 15 Stunden.

Maus 265 (Kontr.) 0,25 ccm Norm.-S. subc. nach 18 St. 0,0000001 ccm K. intrap. stirbt nach 28 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß man unserer Voraussetzung entsprechend auch bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion mit dem behandelten Immunserrum Schutz erzielen kann, wenn man die Bakterienmenge so gering wählt, daß man nicht binnen 8 bis 12 Stunden, sondern in der üblichen Zeit von 18 bis 24 Stunden den Tod erzielt. Infolge dieser langsameren Vermehrung gewinnt die antiaggressive Komponente Zeit, auf den Organismus zu wirken und die Infektion zu unterdrücken. Allerdings könnte man hier auch einwenden, daß das behandelte Immunserrum einen Teil der Bakteriolyse besitzt, mittels welcher es die geringe Bakteriendosis abtötet und dadurch die Infektion verhütet. Dies scheint uns jedoch deshalb nicht der Fall zu sein, weil selbst die Dosis von 1 ccm des behandelten Immunserrums nicht so viel Bakteriolyse enthält, um die Infektion mit 0,001 Kultur zu verhindern (Maus 254). Sehr deutlich zeigt dieser Versuch, wie sicher das behandelte Immunserrum bei vorzeitiger Injektion schützend wirkt (Maus 259 bis 262).

Um die Versuche zu erweitern, haben wir noch ein Hühnercholera-Immunserrum untersucht, welches nicht mit unserer Methode, sondern durch Injektion von Pferden mit lebenden Hühnercholera-Bakterien hergestellt war. Das Immunserrum stammte vom Institut W. G a n s in Frankfurt a. M. Es war immerhin möglich, daß sich dieses Serum anders verhält als das unserige, obzwar es sehr unwahrscheinlich schien, da es ja im Prinzip dasselbe ist, ob die Bakterien im Tierkörper das Aggressin bilden, oder ob letzteres, losgelöst von den Bakterien und ohne diese dem Organismus einverleibt wird. Doch war es von Interesse, ob sich auch in diesem Immunserrum beide Komponente nachweisen lassen und in welchem quantitativen Verhältnisse diese zueinander stehen. Wir haben die Wirksamkeit des Frankfurter Immunserrums nicht

mit unserem Stamm, sondern mit einem ebenfalls vom Institut G a n s bereitwilligst zur Verfügung gestellten geprüft.

Versuch XVIII.

Maus 266 0,1 ccm I.-S. Gans + 0,01 ccm Kultur Gans intrap. lebt
 „ 267 0,05 „ „ „ + 0,01 „ „ „ „ „
 „ 268 0,01 „ „ „ + 0,01 „ „ „ „ „ stirbt n. 48 St.
 Nach 24 St. bereits schwer krank.
 „ 269 0,1 „ Normalser. + 0,01 „ Kultur Gans intrap. stirbt nach
 (Kontrolle) weniger als 18 Stunden.

Die Titration des Immunserums G a n s ergibt eine starke Wirksamkeit desselben gegen den zugehörigen Stamm. Dieser unterscheidet sich von dem unserigen nach zwei Richtungen. Erstens tötet er selbst in der zehnfach stärkeren Dosis vom Peritoneum aus niemals in der kurzen Zeit wie der unserige, sondern innerhalb des Zeitraumes, in welchem unser Stamm von der Subcutis aus wirkt, und zweitens ist bei diesem Stamme, offenbar mit der längeren Lebensdauer im Zusammenhange stehend, die Zahl der Bakterien im Blute der gestorbenen Mäuse meistens eine größere.

Versuch XIX.

Das Immunserum Gans wird in derselben Weise wie in unseren früheren Versuchen, und zwar mit dem dazugehörigen Stamme erschöpft.

Maus 270 0,2 ccm Immunserum Gaus + 0,01 ccm Kultur intraperitoneal lebt
 „ 271 0,1 „ „ „ + 0,01 „ „ „ „ „
 „ 272 0,05 „ „ „ + 0,01 „ „ „ „ „
 Maus 273 0,2 ccm beh. Immunserum + 0,01 ccm Kultur intraperitoneal lebt
 „ 274 0,1 „ „ „ + 0,01 „ „ „ „ stirbt
 nach weniger als 18 St.
 „ 275 0,05 „ „ „ + 0,01 „ Kultur intraperitoneal stirbt
 nach weniger als 18 St.

Maus 276 0,2 ccm Normalserum + 0,01 ccm Kultur intraperitoneal
 stirbt nach weniger als 18 Stunden.

„ 277 0,2 ccm Normalserum + 0,01 ccm Kultur intraperitoneal
 stirbt nach weniger als 18 Stunden.

Maus 278 0,2 ccm Immunser. subcut. nach 18 St. 0,01 ccm Kultur intrap. lebt
 „ 279 0,1 „ „ „ „ 18 „ 0,01 „ „ „ „ „
 „ 280 0,05 „ „ „ „ 18 „ 0,01 „ „ „ „ „
 Maus 281 0,2 ccm beh. I.-S. subcut. nach 18 St. 0,01 ccm Kultur intrap. lebt
 „ 282 0,1 „ „ „ „ „ 18 „ 0,01 „ „ „ „ „
 „ 283 0,05 „ „ „ „ „ 18 „ 0,01 „ „ „ „ stirbt
 nach 3 Tagen. Im Peritoneum 0, im Blute vereinzelte Keime.

374 Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuserums.

Maus 284	0,2 ccm	Normalser. subc.	nach 18 St.	0,1 ccm	Kultur intrap.	stirbt	nach weniger als 18 St.
„ 285	0,2	„	„	„	„	18 „	0,1 ccm Kultur intrap. stirbt nach weniger als 18 St.

Die Infektion wurde mit der ersten Passage des Stammes Gans vorgenommen.

Gleich der erste Versuch stimmt mit unseren früheren insoferne überein, als auch hier das behandelte Immuserum, vorzeitig gegeben, deutlich besser wirkt als bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion. Doch unterscheidet es sich von unseren früheren Seris dadurch, daß auch bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion die Erschöpfung durch die Bakterienbehandlung keine so vollkommene ist, denn wir sehen, daß 0,2 des behandelten Immuserums noch wirksam ist (Maus 273). Wenn wir bedenken, daß dieses Immuserum ungefähr fünfmal so schwach wirksam ist als unser erstes, mit dem wir die meisten Versuche angestellt haben, und welches nach der Bakterienbehandlung ausnahmslos in der Dosis von 0,25 ccm unwirksam war, so müßte man annehmen, daß das Serum Gans trotz der schwächeren Wirksamkeit eine größere Quantität von bakteriziden Antikörpern besitzt. Man müßte auch daran denken, daß vielleicht der Stamm Gans eine geringere Bindungskraft für die Immunkörper besitzen würde als unser Stamm. Am wahrscheinlichsten erscheint uns jedoch die Erklärung, daß der Stamm Gans nicht die starke sofort einsetzende Vermehrungskraft besitzt wie der unserige, da ja selbst mit der zehnfach höheren Bakterienmenge vom Peritoneum aus die Mäuse erst in 18 Stunden erliegen. Bei Berücksichtigung unserer früheren Auseinandersetzungen dürfte dies der Grund sein, daß hier bei intraperitonealer Infektion die momentane Wirkung der Bakteriolyse nicht so in den Vordergrund tritt, und daß die langsamere Vermehrungsfähigkeit den antiaggressiven Schutzstoffen Zeit gewährt, ihre Wirkung zu entfalten.

Versuch XX.

Immuserum Gans behandelt wie in den früheren Versuchen.

Maus 286	0,2 ccm	Immuser. subc.	nach 18 St.	0,005 ccm	Kultur intrap.	lebt
„ 287	0,1	„	„	„	„	18 „ 0,005 „ „ „ „
„ 288	0,05	„	„	„	„	18 „ 0,005 „ „ „ „
„ 289	0,02	„	„	„	„	18 „ 0,005 „ „ „ „

Maus 290	0,2 ccm beh. I.-S. subc.	nach 18 St.	0,005 ccm Kultur interp.	lebt
„ 291	0,1 „ „ „ „ „	18 „	0,005 „ „ „ „	„
„ 292	0,05 „ „ „ „ „	18 „	0,005 „ „ „ „	„
„ 293	0,02 „ „ „ „ „	18 „	0,005 „ „ „ „	„
Maus 294	0,2 ccm Normalserum subcut.	nach 18 St.	0,005 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 18 Stunden.
„ 295	0,2 ccm Normalserum subcut.	nach 18 St.	0,005 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 18 Stunden
Maus 296	0,2 ccm Immunserum + 0,005 ccm Kultur intraperitoneal			lebt
„ 297	0,1 „ „ + 0,005 „ „ „			„
„ 298	0,05 „ „ + 0,005 „ „ „			„
„ 299	0,02 „ „ + 0,005 „ „ „			„
Maus 300	0,2 ccm beh. I.-Ser. + 0,005 ccm Kultur intrap.			lebt
„ 301	0,1 „ „ „ + 0,005 „ „ „			lebt
„ 302	0,05 „ „ „ + 0,005 „ „ „			stirbt nach 25 St.
„ 303	0,02 „ „ „ + 0,005 „ „ „			„ „ 18 „
Maus 304	0,2 ccm Normalser. subc. + 0,005 ccm Kult. intrap.			stirbt n. 18 St.
„ 305	0,2 „ „ „ + 0,005 „ „ „			„ „ 18 „
Maus 306	0,2 ccm beh. I.-S. + 0,005 ccm Kultur subcut.			lebt
„ 307	0,1 „ „ „ + 0,005 „ „ „			„
„ 308	0,05 „ „ „ + 0,005 „ „ „			„
„ 309	0,02 „ „ „ + 0,005 „ „ „			„
„ 310	(Kontrollen) 0,2 „ Normalser. + 0,005 „ „ „			stirbt nach 24 St.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 4. Passage des Stammes Gans vorgenommen.

Auch dieser mit dem Serum G a n s angestellte Versuch zeigt eine Übereinstimmung mit unseren früheren Versuchen, bis auf die geringere Abschwächung des behandelten Serums bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion (Maus 300 bis 303). Letzteres ist auch der Grund, daß bei der gleichzeitig mit der Injektion des behandelten Serums vorgenommenen subcutanen Infektion ein Schutzverlust des behandelten Immunserums überhaupt nicht zu konstatieren ist (Maus 306 bis 309).

Wir haben noch eine Reihe von Versuchen mit einem neuen Immunserum von G a n s angestellt, welches jedoch, wie die Titration ergab, deutlich schwächer wirkte als das erste, indem 0,05 vom Peritoneum aus nicht mehr schützte. Dieses schwach wirksame Immunserum haben wir dreimal mit dem Bodensatz von je 100 ccm Bouillonkultur behandelt.

Versuch XXI.

Immunserrum Gans wird 3 mal mit Bakterien erschöpft.

Maus 311	0,2 ccm Immunserrum	+ 0,01 ccm Kultur intrap.	lebt
„ 312	0,1 „ „	+ 0,01 „ „	„
„ 313	0,05 „ „	+ 0,01 „ „	stirbt nach 24 St.
Maus 314	0,2 ccm beh. I.-Ser.	+ 0,01 ccm Kultur intraper.	stirbt nach 15 St.
„ 315	0,1 „ „	+ 0,01 „ „	„ „ 15 „
„ 316	0,05 „ „	+ 0,01 „ „	„ „ 15 „
Maus 317 (Kontrolle)	0,2 ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur intraperitoneal	stirbt nach 10 Stunden.
Maus 318	0,2 ccm Imm.-Ser. subc.	nach 18 St. 0,01 ccm Kultur intrap.	lebt
„ 319	0,1 „ „	„ „ 18 „ 0,01 „ „	„
„ 320	0,05 „ „	„ „ 18 „ 0,01 „ „	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 321	0,2 ccm beh. I.-Ser. subc.	nach 18 St. 0,01 ccm Kultur intrap.	lebt
„ 322	0,1 „ „	„ „ 18 „ 0,01 „ „	„
„ 323	0,05 „ „	„ „ 18 „ 0,01 „ „	stirbt nach 21 Stunden.
Maus 324	0,2 ccm Normalser. subcutan	nach 18 Std. 0,01 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 9 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 4. Passage von Stamm Gans vorgenommen.

Auch ein dreimal erschöpftes, schwach wirksames Immunserrum schützt in den Dosen, in welchen es bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion versagt (Maus 314 bis 316), wenn es vorzeitig injiziert (Maus 321 bis 323). Auch sieht man, daß bei mehrfachen Tierpassagen auch dieser Stamm die Fähigkeit erlangt, in kurzer Zeit den Tod der Tiere herbeizuführen (Maus 317, 324).

Schließlich wurde noch geprüft, wie sich dieses dreimal behandelte Immunserrum gegenüber hohen Infektionsdosis von der Subcutis aus verhält, in ähnlicher Weise wie es bereits in Versuch XV mit unserem Immunserrum und unserem Stamme durchgeführt wurde.

Versuch XXII.

Maus 325	0,1 ccm Imm.-S. intrap.	nach 9 St. 0,25 ccm Kultur subcutan	lebt
„ 326	0,1 „ „	„ 9 „ 0,1 „ „	„
„ 327	0,1 „ „	„ 9 „ 0,01 „ „	„
Maus 328	0,1 ccm beh. I.-S. intrap.	nach 9 St. 0,25 ccm Kultur subcutan	lebt
„ 329	0,1 „ „	„ 9 „ 0,1 „ „	„
„ 330	0,1 „ „	„ 9 „ 0,01 „ „	„

Maus 331	0,1 ccm Normalserum intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 22 Stunden.
„ 332	0,1 „ Normalserum intrap.	nach 9 St.	0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 333	0,1 ccm Immunserum	+ 0,25 ccm Kultur subcutan	lebt	
„ 334	0,1 „ „	+ 0,1 „ „	„	
„ 335	0,1 „ „	+ 0,01 „ „	„	
Maus 336	0,1 ccm beh. I.-Ser.	+ 0,25 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 34 St.	
„ 337	0,1 „ „ „	+ 0,1 „ „	stirbt nach 3 Tagen	
„ 338	0,1 „ „ „	+ 0,01 „ „	lebt.	
Maus 339	0,1 ccm Normalser.	+ 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach 24 St.	

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 2. Passage von Stamm Gans vorgenommen.

Es stimmt dieser Versuch mit Versuch XV vollkommen überein; auch hier versagt das behandelte Immunserum gegenüber hohen Dosen bei gleichzeitiger subcutaner Infektion (Maus 336, 337), während es vorzeitig injiziert sich als vollkommen wirksam erweist (Maus 328, 329).

Da wir im Hühnercholera-Immunserum zwei Komponenten, eine bakterizide und antiaggressive wirksam sehen, so entsteht die naheliegende Frage, ob diesen beiden auch zwei verschiedene Antigene im Bakterienleibe entsprechen. Die Tatsache, daß bei Vorbehandlung der Tiere mit Aggressin eine bakterizide Komponente entsteht, ist nicht auffallend, da ja mit dem zentrifuzierten Aggressin zugleich auch tote Bakterien und gelöste Bakterienleiber-substanzen, welche die Antigene für die bakteriziden Immunkörper darstellen, injiziert werden. Viel wichtiger und interessanter erscheint die Frage, ob die Bakterienleiber der Kultur Aggressin enthalten, welches immunisierend wirkt. Von mehreren Seiten wurde dieses Thema behandelt, insbesondere durch die Herstellung der künstlichen Aggressine nach Wassermann und Citron.

Mit Hilfe dieser Methode haben Citron und Pütz gegen Hühnercholera zu immunisieren versucht, was jedoch, wie wir in einer Kritik der genannten Versuche darlegen konnten, insofern mißlungen ist, als eine wirkliche Immunität erst nach Behandlung mit lebenden Bakterien auftrat. Auch Sulima hat mit künstlichen Aggressinen nur inkonstante und unsichere Resultate erzielt. Titze konnte überhaupt mit Extrakten gegen Hühner-

cholera keine Erfolge erzielen. Den genannten Autoren gelang es jedoch leicht, mit tierischem Aggressin sicher und hoch die empfindlichsten Tiere zu schützen. Diese Mißerfolge mit Kultur-extrakten deuten darauf hin, daß extra corpus der Hühnercholera-bazillus, wenn überhaupt, nur quantitativ in geringem Maße zur Aggressinbildung befähigt ist. Da diese Versuche ausschließlich mit Bakterienextrakten ausgeführt waren, so war es wichtig, zu prüfen, wie sich die toten Bakterienleiber verhalten. Es war denkbar und nicht unwahrscheinlich, daß das Aggressin, welches im Tierkörper leicht abgegeben wird, in den Bakterienzellen in geringer Menge enthalten ist und bei deren Verarbeitung im Tierkörper in Lösung geht und wirkt. Da weiter die Bakterienleiber in besonderem Maße zur Erzeugung der bakteriziden Antikörper geeignet sind, so war insbesondere die Rolle dieser in einem mit Bakterien erzeugten Immunserum zu studieren, da auf diesem Wege bei intensiverer Vorbehandlung eine starke Konzentration der bakteriziden Stoffe zu erwarten war. Schon H u n t e m ü l l e r hat Versuche mitgeteilt, nach denen es ihm leicht gelungen ist, mit schonend abgetöteten Bakterien eine sichere Immunität gegen Hühnercholera zu erzielen. Da jedoch dies im Gegensatz zu den Erfahrungen aller früheren Autoren steht, und da die Versuche von H u n t e m ü l l e r sicher richtig sind, so fragt es sich, worauf diese Differenz beruht. Zweifellos darauf, daß, wie aus den Protokollen hervorgeht, H u n t e m ü l l e r mit einem un-gemein schwach virulenten Stamm seine Versuche ausgeführt hat. Es sind jedoch Resultate mit avirulenten Stämmen von Infektions-erregern, die normalerweise eine hohe Virulenz besitzen, nach keiner Richtung hin zu verwerten.

Es wurde deshalb dieses Thema noch einmal bearbeitet, indem wir zwei großen Kaninchen je sechsmal bei 58° abgetötete Bakterien (Bodensatz von je 50 ccm Bouillonkultur) intravenös in Zwischenräumen von einer Woche injizierten. Da in neuerer Zeit mehrfach die Angabe gemacht wurde, daß eine Immunisierung mit sensibilisierten Bakterien leichter gelingt, haben wir je drei Injektionen bei beiden Tieren, und zwar die zweite, vierte und sechste, mit sensibilisierten Hühnercholera-bakterien, die von

der ersten Behandlung unserer Immunsera stammten, ausgeführt. Die Immunisierung wurde trotz der Injektion so großer Bakterienmengen anstandslos vertragen, da die behandelten Tiere weder einen Gewichtsverlust noch sonstige krankhafte Erscheinungen aufwiesen. Das zu den Versuchen verwendete Blut wurde 12 Tage nach der letzten Injektion entnommen. Wir haben die beiden Seris zunächst im Reagenzglas auf ihr bakterizides Vermögen, und zwar im frischen als auch in inaktiviertem Zustande (mit Meer-schweinchenserum als Komplement) untersucht, da wir sehr hohe bakterizide Werte erwarteten.

Untersuchung der frischen Immunsera IV und V.

Serum-menge	Immun-serum IV	Immun-serum V	Normal-serum
0,5	25 000	800	∞ ∞ ∞
0,25	15 000	800	∞ ∞ ∞
0,1	150 000	12 000	∞ ∞ ∞
0 05	∞	25 000	∞ ∞ ∞

Einsatz ca. 50 000.

Untersuchung der inaktiven Immunsera IV und V.

Serum-menge	Komplement (Meer-schweinchen)	Immun-serum IV	Immun-serum V	Normal-serum
0,25	0,5	50 000	35 000	∞ ∞ ∞
0,1	0,5	∞ ∞ ∞	80 000	∞ ∞ ∞
0,05	0,5	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞
0,01	0,5	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞
0,25	—	∞	∞	∞ ∞ ∞
—	0,5	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞

Einsatz ca. 50 000.

Aus den beiden vorangehenden Versuchen geht hervor, daß unsere Erwartung nicht eingetroffen ist. Die beiden Immunsera weisen zwar jene Bakterizidie auf, die Immunsera von Tieren, welche durch mehrere Injektionen von Aggressin vorbehandelt sind, besitzen, ihre bakteriziden Werte sind jedoch trotz der intensiven Bakterienbehandlung keine höheren. Wir geben anbei die Ti-

tration unserer in dieser Publikation angewendeten Immunserra wieder. Die Titration wurde jedesmal kurz nach der Entnahme ausgeführt und ist hier übersichtlich zusammengestellt.

Immunserrum	Komplement-(Meerschweinchen)	Immunserrum I	Immunserrum II	Immunserrum III	Normal-serrum
0,25	0,5	50 000	∞ ∞ ∞	86	∞ ∞ ∞
0,1	0,5	80 000	∞ ∞ ∞	20 000	∞ ∞ ∞
0,05	0,5	∞	∞ ∞ ∞	50 000	∞ ∞ ∞
0,01	0,5	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	500 000	∞ ∞ ∞
0,25	—	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	800 000	∞ ∞ ∞
—	0,5	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞

Einsatz ca. 50 000.

Betreffs der Bakterizidie der drei in unseren Versuchen angewendeten Immunserris ist zu konstatieren, daß eigentlich Immunserrum III am stärksten wirkt, obwohl es bezüglich der Schutzwirkung dem Immunserrum I deutlich nachsteht. Immunserrum II, welches vorzeitig injiziert in geringen Dosen Schutz verleiht, weist deshalb keine bakteriziden Fähigkeiten auf, weil das betreffende Tier nur einmal mit Aggressin behandelt war und solche Tiere gewöhnlich noch keine im Reagenzglase nachweisbaren Mengen von bakteriziden Stoffen bilden. Dies ist auch, wie wir früher bereits ausgeführt haben, der Grund, weshalb solche Immunserra bei gleichzeitiger Infektion insbesondere vom Peritoneum aus wenig oder gar nicht wirksam sind. Geht schon daraus hervor, daß die Stärke der Schutzwirkung mit der Stärke des Bakteriolyseingehaltes nicht Hand in Hand geht, so ist es nun von besonderem Interesse, den Schutzwert unserer beiden durch Bakterieninjektion hergestellten Immunserra zu prüfen, welche zwar keine starke, aber immerhin (insbesondere Serum V) jene Bakterizidie aufweisen, welche wir bei hochschützenden Hühnercholera-Immunserris zu sehen gewohnt sind.

Versuch XXIII.

Die Immunserra IV u. V wurden ganz frisch (aktiv) verwendet.

Maus 340	1 ccm Imm.-S. IV	+ 0,001 ccm Kultur	intraper.	stirbt nach 14 St.
„ 341	0,5 „	+ 0,001 „	„ „	„ „ „
„ 342	0,25 „	+ 0,001 „	„ „	„ „ „

Maus 342	1	ccm Imm.-S. V	+ 0,001 ccm Kultur intraper.	stirbt nach 25 St.
.. 343	0,5	+ 0,001
.. 344	0,25	+ 0,001
Maus 345	0,5	ccm Imm.-S. III	+ 0,001 ccm Kultur intraper.	lebt.
.. 346	0,25	+ 0,001
.. 347	0,1	+ 0,001
Maus 348 (Kontrolle)	1	ccm Normalser.	+ 0,001 ccm Kultur intraperitoneal	stirbt nach 14 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Diesem Versuche entnimmt man, daß weder Immuneserum IV noch V befähigt ist, vom Peritoneum aus gleichzeitig die Infektion zu unterdrücken. Die Tatsache, daß die Tiere mit Immuneserum V deutlich länger leben, scheint uns auf die stärkere Bakterizidie dieses Serums zurückzuführen. Als Kontrolle für die Schutzwirkung haben wir Immuneserum III angewendet, welches, wie ersichtlich, prompt wirkt.

Versuch XXIV.

Immunesera IV und V sind 24 Stunden alt.

Maus 349	0,5	ccm Imm.-S. IV	+ 0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 28 St.
.. 350	0,2	+ 0,01 34 ..
.. 351	0,1	+ 0,01 weniger als 24 Stunden.
Maus 351	0,5	ccm I.Ser.V	+ 0,01 ccm Kult. subcut.	stirbt n. wenig. als 24 St.
.. 352	0,25	+ 0,01 24 ..
.. 353	0,1	+ 0,01 24 ..
Maus 354	0,5	ccm Immuneserum III	+ 0,01 ccm Kultur subcut.	lebt.
.. 355	0,25	+ 0,01
.. 356	0,1	+ 0,01
Maus 357 (Kontrolle)	0,5	ccm Normalserum	+ 0,01 ccm Kultur subcutan	stirbt nach weniger als 24 Stunden.

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Auch hier sehen wir keine Schutzwirkung, wenn die Sera gleichzeitig mit der subkutanen Infektion injiziert werden; doch zeigt sich hier, gerade umgekehrt wie in Versuch 23, eine Verlängerung der Lebensdauer bei Immuneserum IV. Dies weist darauf hin, daß in der Subcutis der größere Bakteriolysegehalt von Immuneserum V nicht zur Geltung kommt, und daß vielleicht Immuneserum IV die zweite Komponente besitzt, d. h. antiaggressiv wirkt.

Dies würde jedoch erst bei vorzeitiger Injektion deutlich hervortreten.

Versuch XXV.

Maus 358	1 ccm I.-Ser. IV subc.	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intrap.	lebt
„ 359	0,6 „ „ „	18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 360	0,35 „ „ „	18 „	0,0001 „ „ „	stirbt nach 18 Stunden.
Maus 360	1 ccm Imm.-Serum V subc.	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 42 Stunden.
Maus 361	0,6 ccm Imm.-Serum V subc.	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 48 Stunden.
Maus 362	0,35 ccm Imm.-Ser. V subc.	nach 18 St.	0,0001 ccm Kultur intrap.	stirbt nach 18 Stunden.
Maus 363	0,5 ccm I.-Ser. III subc.	nach 18 St.	0,0001 ccm Kult. intrap.	lebt
„ 364	0,35 „ „ „	18 „	0,0001 „ „ „	„
„ 365	0,1 „ „ „	18 „	0,0001 „ „ „	„
Maus 366 (Kontrolle)	1 ccm N.-Ser. III subc.	n. 18 St.	0,0001 ccm Kult. intrap.	stirbt nach 18 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Bei vorzeitiger Injektion der Immunserra ist das Bild vollkommen geändert; jetzt schützt, wie vorausgedacht, Immunserrum IV, während zwar Immunserrum V ebenfalls eine Lebensverlängerung bedingt, aber die Infektion nicht aufzuhalten vermag. Schließlich ergab sich noch die Notwendigkeit, bei vorzeitiger Immunserruminjektion die Infektion von der Subcutis aus zu prüfen.

Versuch XXVI.

Maus 367	0,5 ccm I.-Ser. IV intrap.	nach 18 St.	0,01 ccm Kult. subcut.	lebt
„ 368	0,25 „ „ „	18 „	0,01 „ „ „	„
„ 369	0,1 „ „ „	18 „	0,01 „ „ „	„
Maus 370	0,5 ccm Imm.-Ser. V intrap.	nach 18 St.	0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 371	0,25 ccm Imm.-Ser. V intrap.	nach 18 St.	0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 372	0,1 ccm Imm.-Ser. V intrap.	nach 18 St.	0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 373	0,5 ccm I.-Ser. III intrap.	nach 18 St.	0,01 ccm Kult. subcut.	lebt
„ 374	0,25 „ „ „	18 „	0,01 „ „ „	„
„ 375	0,1 „ „ „	18 „	0,01 „ „ „	„

Maus 376 (Kontrolle) 0,5 ccm N.-Ser. intrap. n. 18 St. 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 24 Stunden.

Maus 377 (Kontrolle) 0,25 ccm N.-Ser. intrap. n. 18 St. 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 24 Stunden.

Maus 378 (Kontrolle) 0,1 ccm N.-Ser. intrap. n. 18 St. 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 24 Stunden.

Die Infektion in diesen Versuche wurde mit dem passierten Stamm vorgenommen.

Auch von der Subcutis aus schützt Immuserum IV, vorzeitig injiziert, während bei Immuserum V jene Lebensverlängerung, die es bei intraperitonealer Infektion bewirkt, nicht vorhanden ist.

Das verschiedene Verhalten der beiden durch Behandlung mit abgetöteten Bakterien hergestellten Immusera ist für die Auffassung der Wirkungsweise des Hühnercholera-Immuserums nicht ohne Bedeutung. Bezüglich des experimentellen Ergebnisses ist so viel sicher, daß beide Immusera sowohl bei subkutaner als auch bei intraperitonealer gleichzeitiger Infektion wirkungslos sind. Die geringe Lebensverlängerung, die mit Immuserum V bei intraperitonealer Infektion erzielt wird, dürfte auf den stärkeren Bakteriolysegehalt dieses Serums zurückzuführen sein.

Bei vorzeitiger Injektion schützt Immuserum IV sowohl bei intraperitonealer als auch bei subkutaner Infektion, während Immuserum V bei subcutaner Infektion überhaupt nicht schützt und bei intraperitonealer Infektion nur ein Hinausschieben des Todes bedingt, auch wenn es vorzeitig injiziert wird. Unserer Auffassung gemäß, nach welcher die antiaggressive Komponente bei vorzeitiger Injektion des Immuserums deutlich hervortritt, ist anzunehmen, daß Immuserum IV die antiaggressive Komponente enthält, und vermöge derselben sowohl von der Subcutis als auch vom Peritoneum (vorzeitig injiziert) aus schützt (Maus 258 bis 260, 267 bis 269). Daß diese Komponente jedoch sehr schwach ist, beweist der Umstand, daß das Immuserum vom Peritoneum aus erst in großen Dosen von der Subcutis aus bei gleichzeitiger Infektion gar nicht schützt. Denn die isolierten antiaggressiven Stoffe schützen in etwas höherer Dosis auch bei gleichzeitiger subcutaner Infektion, da, worauf bereits öfters hingewiesen wurde, die Vermehrung der Hühnercholera-bazillen von der Subcutis aus nicht so stürmisch vor sich geht.

Bei Immunserum V ist von einer Wirkung antiaggressiver Schutzstoffe nichts zu sehen. Die geringe Wirkung, die dieses Immunserum ausübt, ist wahrscheinlich auf die etwas stärkere Bakterizidie zurückzuführen, welche auch nur bei intraperitonealer Infektion zur Geltung kommt. Jedenfalls zeigen diese Versuche, wir werden darauf noch zurückkommen, daß die bakterizide Komponente des Hühnercholera-Immunserums für seinen Schutzwert nicht von großer Bedeutung ist.

Auch geht aus diesen Versuchen hervor, daß die abgetöteten Bakterien nicht nur bakterizide sondern auch antiaggressive Schutzstoffe gegen Hühnercholera Bazillen erzeugen. Die Ausbildung der antiaggressiven Schutzstoffe ist so zu erklären, daß die Bakterien in ihrem Leibe geringe Mengen Aggressin enthalten, was ja auch nicht auffallend ist, und dieses bildet im Organismus, da wir ja eine ungemein große Masse Bakterienleiber injiziert haben, eine geringe Menge antiaggressiver Schutzstoffe. Praktisch tritt jedoch diese Immunisierungsmethode gegenüber der Behandlung mit Aggressin, wo es a u s n a h m s l o s leicht gelingt, sowohl aktiv als auch passiv die empfindlichsten Tiere mit Sicherheit zu schützen, ganz in den Hintergrund.

Schon als wir die ersten Versuche über die Wirkungsweise des Hühnercholera-Immunserums angestellt haben, wurde geprüft, ob das Aggressin die Fähigkeit besitzt, die Immunserumwirkung zu paralisieren. Als wir jedoch gleichzeitig mit diesen Versuchen die Tatsache feststellen konnten, daß komplementbindende Mittel das Immunserum im Tierkörper wirkungslos machen, da hatten die Aggressinversuche das Interesse verloren, weil ja in der Kombination Aggressin-Immunserum ebenfalls ein komplementbindendes System vorliegt, und zwar durch die Bakterienleibesbestandteile des Aggressins und die bakteriellen Antikörper des Immunserums. Die Paralyisierung des Immunserums durch das Aggressin konnte also ebensogut dadurch, als durch die reine Aggressinwirkung zustande gekommen sein. Trotzdem haben wir damals (1905) eine Reihe von Versuchen ausgeführt, und wenn wir diese erst heute mitteilen, so geschieht es deshalb, weil, wie wir sehen werden, jetzt die Beurteilung derselben von anderen Gesichtspunkten aus möglich ist.

Versuch XXVII (aus dem Jahre 1905).

Maus 379	0,8 ccm Norm.-Ser.	+ 0,2 ccm Imm.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropfen Kult.	lebt
.. 380	0,8 „ Aggressin	+ 0,2 „ „	+ $\frac{1}{10}$ „ „	stirbt nach 40 Stunden.
.. 381	0,4 „ „	+ 0,2 „ „	+ $\frac{1}{10}$ Tropfen Kult.	lebt
.. 382	0,8 „ „	+ 0,2 „	Normalserum ohne Infektion	lebt.
.. 383	1 ccm Normal.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur		stirbt nach 19 Stunden.

Dieser Versuch lehrt, daß 0,8 ccm die Immunserumwirkung aufhebt, während 0,4 Aggressin dies nicht vermag. Daß die Menge von 0,8 Aggressin ungiftig ist, zeigt Maus 382.

Versuch XXVIII (1905).

Maus 384	0,8 ccm N.-Ser.	+ 0,2 ccm I.-Ser.	n. 18 St. $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult. subcut.	lebt
.. 385	0,8 „ Aggress.	+ 0,2 „ „	„ 18 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „	„
.. 386	0,8 „ „	+ 0,2 „ „	ohne Infektion	lebt.
.. 387	1 ccm Normalserum	nach 18 St. $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur	subcutan	lebt.

Wird das Aggressin und das Immunserum zusammen 18 Stunden vor der Infektion injiziert, so tritt nur die Immunserum-, nicht aber die Aggressinwirkung in Kraft.

Versuch XXIX (1905).

Maus 388	0,6 ccm Aggress.	+ 0,15 ccm Imm.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropf. Kultur subcut.	stirbt nach weniger als 40 Stunden.
Maus 389	0,4 ccm Aggr.	+ 0,1 ccm I.-Ser.	+ 0,3 N.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tr. Kult. subcut. stirbt nach 24 Stunden.
Maus 390	0,15 ccm Aggr.	+ 0,15 ccm I.-Ser.	+ 0,5 N.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tr. Kult. subcut. lebt.
Maus 391	0,1 ccm Aggr.	+ 0,1 ccm I.-Ser.	+ 0,6 N.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tr. Kult. subcut. lebt.
Maus 392	0,6 ccm Aggress.	+ 0,2 ccm Normalserum	ohne Infektion	lebt.
.. 393 (Kontrolle)	0,8 ccm Normalser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult.		stirbt n. 19 St.

Gegen 0,1 Immunserum wirkt bereits 0,4 Aggressin bei gleichzeitiger Infektion.

Versuch XXX (1905).

Maus 394	1 ccm Aggress.	nach 24 St. 0,2 I.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult. subcut.	lebt
.. 395	0,5 „ „	„ 24 „ 0,2 „	+ $\frac{1}{10}$ „ „ „	„
.. 396	1 „ N.-Ser.	„ 24 „ 0,2 „	+ $\frac{1}{10}$ „ „ „	„
.. 397 (Kontrolle)	1 ccm N.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur	subcut.	stirbt n. 22 St.
Maus 398	0,8 ccm Aggress.	+ 0,2 ccm Imm.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropf. Kultur subcut.	stirbt nach 22 Stunden.
Maus 399	0,4 ccm Aggress.	+ 0,2 ccm Imm.-Ser.	+ $\frac{1}{10}$ Tropf. Kultur subcut.	stirbt nach 38 Stunden.

Maus 400 0,8 ccm N.-Ser. + 0,2 ccm I.-S. + $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcut. lebt
 „ 401 0,8 „ „ Aggr. ohne Infektion lebt.
 „ 402 0,8 „ „ Norm.-Ser. + $\frac{1}{10}$ Tropfen Kult. subcut. stirbt nach 24 St.

Wir sehen hier, daß das Aggressin, wenn es 24 Stunden vor dem Immunserum selbst in großer Menge injiziert wird (Maus 394), eine paralyisierende Wirkung auf das Immunserum nicht ausübt.

Versuch XXXI (1905).

Maus 403 0,8 ccm Aggr. + 0,2 ccm I.-Ser. n. 16 St. + $\frac{1}{10}$ Tr. Kult. subc. lebt
 „ 404 0,4 „ „ + 0,2 „ „ „ 16 „ + $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
 „ 405 0,8 „ „ N.-Ser. + 0,2 „ „ „ 16 „ + $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
 „ 406 0,8 „ „ Aggr. ohne Infektion lebt.
 „ 407 (Kontrolle) 0,8 ccm Norm.-Ser. nach 16 St. + $\frac{1}{10}$ Tropfen Kultur subcutan stirbt nach 17 Stunden.
 Maus 408 0,2 ccm I.-Ser. nach 18 St. 0,8 ccm Aggr. + $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult. subc. stirbt nach 30 Stunden.
 Maus 409 0,2 ccm I.-Ser. nach 18 St. 0,8 ccm N.-Ser. + $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult. subc. lebt.
 Maus 410 0,8 ccm Aggr. ohne Infektion lebt.
 „ 411 0,2 ccm N.-Ser. nach 18 St. 0,8 ccm N.-Ser. + $\frac{1}{10}$ Tropf. Kult. subc. stirbt nach 18 Stunden.

Diesem Versuch entnimmt man, daß das vor der Infektion injizierte Aggressin nicht wirkt (Maus 403, 404), während das vorzeitig gegebene Immunserum durch das Aggressin, welches man gleichzeitig mit der Infektion injiziert, paralyisiert wird (Maus 408).

Diese Versuche, welche demonstrieren, daß das Aggressin nur dann die Schutzkraft des Immunserums aufhebt, wenn es zusammen mit den Bakterien injiziert wird, während die zeitliche verschiedene Injektion des Immunserums gleichgültig ist, machen es wahrscheinlich, daß das Aggressin nicht nach Art eines Toxins das Immunserum beeinflußt, sondern entweder auf die Bakterien oder auf den Organismus einwirkt. Wenn wir letzteres als wahrscheinlicher annehmen, so läßt sich allerdings, wie bereits erwähnt, nach den jetzigen Versuchen nicht mit Sicherheit annehmen, ob außer dem komplementbindenden Anteil des Aggressins nicht noch eine andere Komponente wirksam ist. Daß die Komplementbindung eine Bedeutung haben kann, ist klar, wenn wir bedenken, daß durch diese der bakterizide Anteil des Hühnercholera-Immunserums ausgeschaltet wird. Es lehren jedoch bereits diese Versuche, daß, wenn der komplement-

Maus 423	0,2 ccm Imm.-Ser. + 0,001 ccm Kultur intraper.	lebt.
„ 424	0,1 „ „ + 0,001 „ „ „ „	„
„ 425	0,05 „ „ + 0,001 „ „ „ „	„
„ 426	0,5 „ beh. I.-Ser. + 0,001 „ „ „ „	stirbt nach weniger als 12 Stunden.
Maus 427 (Kontrolle)	0,5 ccm Normalserum + 0,001 ccm Kultur intraper.	stirbt nach weniger als 12 Stunden.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Dieser Versuch lehrt, daß auch das behandelte Immunserrum, welches seiner komplementbindenden Fähigkeit beraubt ist, vom Aggressin unwirksam gemacht wird (Maus 414, 415). Daß das Immunserrum durch die Behandlung seiner antibakteriellen Stoffe verlustig wurde, zeigt Maus 426. Gegenüber der gleichzeitigen subcutanen Infektion weist das behandelte Immunserrum wohl aus dem Grunde keine Abschwächung auf (Maus 412, 413), weil wir absichtlich mit dem nicht passierten Stamm die Infektion vorgenommen haben. Die Unschädlichkeit des Aggressins allein zeigt Maus 422.

Versuch XXXIII.

Das in diesem Versuche angewendete behandelte Immunserrum stammt von Versuch XXXII.

Maus 428	0,2 ccm beh. I.-Ser. intrap. nach 8 St. 1 ccm norm. Kaninch.-Exsudat + 0,01 ccm Kultur subcut.	lebt.
Maus 429	0,1 ccm beh. I.-Ser. intrap. nach 8 St. 1 ccm norm. Kaninch.-Exsudat + 0,01 ccm Kultur subcut.	lebt.
Maus 430	0,2 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 8 Stunden 1 ccm Aggressin + 0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 24 Stunden.
Maus 431	0,1 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 8 Stunden 1 ccm Aggressin + 0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt nach 19 Stunden.
Maus 432	0,2 ccm I.-Ser. intrap. nach 8 St. 1 ccm normal. Kaninch.-Exsudat + 0,01 ccm Kultur subcut.	lebt.
Maus 433	0,1 ccm I.-Ser. intrap. nach 8 St. 1 ccm normal. Kaninch.-Exsudat + 0,01 ccm Kultur subcut.	lebt.
Maus 434	0,2 ccm I.-Ser. intrap. n. 8 St. 1 ccm Aggr. + 0,01 ccm Kult. subc.	stirbt nach 25 Stunden.
Maus 435	0,1 ccm I.-Ser. intrap. n. 8 St. 1 ccm Aggr. + 0,01 ccm Kult. subc.	stirbt nach 22 Stunden.
Maus 436	0,2 ccm beh. I.-Ser. + 1 ccm Aggress. intr. nach 8 St. ¹⁾ 1 ccm norm. Kaninchen-Exsudat + 0,01 ccm Kult. subcut.	stirbt nach 48 Stunden.

¹⁾ Nach 8 Stunden sind sämtliche Mäuse krank, in der Bauchhöhle sind keine Bakterien.

- Maus 437 0,1 ccm beh. I.-Ser. + 1 ccm Aggress. intr. nach 8 St.¹⁾ 1 ccm norm. Kaninchen-Exsudat + 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 48 Stunden.
- Maus 438 0,2 ccm Imm.-Ser. + 1 ccm Aggress. intr. nach 8 St.¹⁾ 1 ccm norm. Kaninchen-Exsudat + 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 3 Tagen.
- Maus 439 0,1 ccm Imm.-Ser. + 1 ccm Aggress. intr. nach 8 St.¹⁾ 1 ccm norm. Kaninchen-Exsudat + 0,01 ccm Kult. subcut. stirbt nach 48 Stunden.
- Maus 440 0,2 ccm Norm.-Ser. intrap. nach 8 St. 0,01 ccm Kultur subcutan stirbt nach 15 Stunden.
- Maus 441 0,2 ccm Norm.-Ser. intrap. nach 8 St. 0,01 ccm Kultur subcutan stirbt nach 18 Stunden.
- Maus 442 1,5 ccm Aggress. subcut. Ohne Infektion lebt.

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit der 1. Passage vorgenommen.

Hier wurde das Aggressin mit dem Immunserum zusammen acht Stunden vor der subcutanen Infektion intraperitoneal injiziert. Aus den früheren Versuchen wissen wir, daß es seine Wirkung verliert, wenn es 18 bis 24 Stunden früher injiziert wird. Nach acht Stunden ist zwar die Wirkung des Aggressins schon ganz deutlich abgeschwächt, denn während die gleichzeitig mit der Aggressininjektion infizierten Tiere nach 24 Stunden sterben (Maus 430, 431, 434, 435), leben die vorzeitigen 48 Stunden bis drei Tage, obzwar die entsprechenden Tiere bei der Infektion deutlich krank sind, und zwar infolge der intraperitonealen Injektion des Aggressins (Maus 436 bis 439). Subcutan wird es jedoch ohne die geringsten Krankheitserscheinungen in großer Menge vertragen. Daß sich auch in dieser Versuchsanordnung das behandelte und native Immunserum dem Aggressin gegenüber ganz gleich verhalten, geht ebenfalls ganz klar hervor.

Versuch XXXIV.

Das Immunserum wird wie in den früheren Versuchen mit Bakterien behandelt.

- Maus 443 0,2 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 18 Stund. 1 ccm Norm.-Ser. + 0,01 ccm Kultur subcut. lebt.
- Maus 444 0,1 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 18 Stund. 1 ccm Norm.-Ser. + 0,01 ccm Kultur subcut. lebt.
- Maus 445 0,2 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 18 Stund. 1 ccm Aggressin + 0,01 ccm Kultur subcut. stirbt nach 24 Stunden.
- Maus 446 0,1 ccm beh. Imm.-Ser. intrap. nach 18 Stund. 1 ccm Aggressin + 0,01 ccm Kultur subcut. stirbt nach 26 Stunden.

390 Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immunserums.

- Maus 447 0,2 ccm I.-Ser. intr. n. 18 St. 1 ccm N.-Ser. + 0,01 ccm Kult. subc. lebt.
- Maus 448 0,1 ccm I.-Ser. intr. n. 18 St. 1 ccm N.-Ser. + 0,01 ccm Kult. subc. lebt.
- Maus 449 0,2 ccm I.-Ser. intr. n. 18 St. 1 ccm Aggress. + 0,01 ccm Kult. subc. stirbt nach 27 Stunden.
- Maus 450 0,1 ccm I.-Ser. intr. n. 18 St. 1 ccm Aggress. + 0,01 ccm Kult. subc. stirbt nach 34 Stunden.
- Maus 451 0,2 ccm beh. Imm.-Ser. + 1 ccm Aggress. intrap. nach 18 Stund.¹⁾ 0,01 ccm Kult. subcut. lebt.
- Maus 452 0,1 ccm beh. Imm.-Ser. + 1 ccm Aggress. intrap. nach 18 Stund.¹⁾ 0,01 ccm Kult. subcut. lebt.
- Maus 453 0,2 ccm I.-Ser. + 1 ccm Aggr. intr. n. 18 St.¹⁾ 0,01 ccm Kult. subc. lebt.
- Maus 454 0,1 ccm I.-Ser. + 1 ccm Aggr. intr. n. 18 St.¹⁾ 0,01 ccm Kult. subc. lebt.
- Maus 455 0,5 ccm Norm.-Ser. intrap. nach 18 St. 0,01 ccm Kultur subcutan stirbt nach weniger als 18 Stunden.
- Maus 456 0,5 ccm Norm.-Ser. intrap. nach 18 St. 0,01 ccm Kultur subcutan stirbt nach weniger als 18 Stunden.
- Maus 457 2 ccm Aggressin subcutan ohne Infektion lebt.
- „ 458 1,5 ccm Aggressin intraper. Anfangs krank lebt.
- Maus 459 0,5 ccm Imm.-Ser. + 0,001 ccm Kultur intrap. lebt.
- „ 460 0,2 „ „ + 0,001 „ „ „ „
- „ 461 0,1 „ „ + 0,001 „ „ „ „
- Maus 462 1 ccm beh. Imm.-Ser. + 0,001 ccm Kult. intrap. stirbt nach 12 St.
- „ 463 0,5 „ „ „ + 0,001 „ „ „ „ „ 14 „
- „ 464 (Kontrolle) 1 ccm N.-Ser. + 0,001 ccm Kult. intr. stirbt n. 10 „

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit Passage 4 vorgenommen.

Bei der 48 Stunden vor der Infektion erfolgten Injektion des Aggressins erweist sich dieses völlig wirkungslos, so daß unter diesen Bedingungen das Immunserum, gleichgültig ob mit Bakterien behandelt oder nicht, seine Schutzkraft behält (Maus 451 bis 454).

Die durch diese Versuche erwiesene Tatsache, daß das Aggressin und das Immunserum nicht direkt aufeinander einwirken, hat eine praktisch immunisatorische Bedeutung. Man wird nämlich mit Vorteil eine Immunisierung derart durchführen, daß man Immunserum und Aggressin gleichzeitig injiziert. Da die paralyisierende

¹⁾ Nach 18 Stunden, d. i. zur Zeit der Infektion, sind noch alle Mäuse krank.

Wirkung des Aggressins nach einigen Stunden schwindet, die immunisierende Fähigkeit des Serums jedoch einige Tage (14 Tage nach S c h ö b l) anhält, so wird zu der Zeit, wo noch der Immunerumschutz besteht, bereits aktive Immunität durch das Aggressin eingetreten sein.

In theoretischer Hinsicht können wir auf Grund dieser Versuche den Schluß ziehen, daß das Aggressin auch ohne Beeinflussung der bakteriziden Stoffe des Hühnercholera-Immuserums durch Komplementbindung noch auf eine andere Weise die Immuserumwirkung stört. Daß es sich hierbei höchstwahrscheinlich um eine Einwirkung auf den Organismus handelt, haben wir bereits hervorgehoben. Wir wollen hier nicht erörtern, auf welche Komponente des Organismus das Aggressin wirkt, sondern nur darauf hinweisen, daß die Ausschaltung eines Schutzstoffes des normalen Tieres in spezifischem Sinne nach unseren heutigen Kenntnissen schwer erklärlich ist. So können wir z. B. leicht das Komplement¹⁾ oder die Leukozyten unwirksam machen, nicht aber die Komplement- oder Leukozytenwirkung gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus. Hebt nun aber das Aggressin irgendeine Funktion im Organismus auf, welche für die Immuserumwirkung nötig ist, sagen wir z. B. die Leukozytenwirkung, so werden alle jene Stoffe, welche die Leukozytenwirkung stören, auch das Immuserum wirkungslos machen, es wird also die paralyisierende Wirkung des Aggressins nichtspezifisch sein. Um dies zu prüfen, haben wir folgenden Versuch angestellt.

Versuch XXXV.

- Maus 465 0,2 ccm Imm.-Ser. intrap. nach 18 St. 1 ccm Milzbrand-Aggressin
+ 0,01 ccm Kultur subcut. lebt.
Maus 466 0,1 ccm Imm.-Ser. intrap. nach 18 St. 1 ccm Milzbrand-Aggressin
+ 0,01 ccm Kultur subcut. lebt.
Maus 467 1 ccm Milzbrand-Aggressin subcutan (ohne Infektion) lebt.

1) Es ist zu bedenken, daß es zwar gelingt, die normalen bakteriziden Ambozeptoren spezifisch zu binden, dabei kommt es aber auch zu einer Bindung des Komplements, so daß wiederum eine nichtspezifische Herabsetzung der Resistenz entsteht.

392 Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immunserums.

Maus 468	0,2 ccm I.-Ser. intrap. nach 18 St.	1 ccm Pneumokokken-Aggress.							
		+ 0,01 ccm Kultur	stirbt nach 34 Stunden.						
Maus 469	0,1 ccm I.-Ser. intrap. nach 18 St.	1 ccm Pneumokokken-Aggress.							
		+ 0,01 ccm Kultur	stirbt nach 34 Stunden.						
Maus 470	(ohne Infektion)	1 ccm Pneumokokken-Aggressin	lebt.						
Maus 471	0,2 ccm I.-Ser. intrap. nach 18 St.	1 ccm Hühnercholera-Aggress.							
		+ 0,01 ccm Kultur	stirbt nach 34 Stunden.						
Maus 472	0,1 ccm I.-Ser. intrap. nach 18 St.	1 ccm Hühnercholera-Aggress.							
		+ 0,01 ccm Kultur	stirbt nach 34 Stunden.						
Maus 473	(ohne Infektion)	nach 18 St.	1 ccm Hühnercholera-Aggress.	lebt					
Maus 474	0,2 ccm I.-Ser. intrap. nach 18 St.	0,01 ccm Kultur subcut.	lebt						
„ 475	0,1 „ „ „ „ 18 „	0,01 „ „ „ „							
„ 476	0,5 „ Normalserum „ 18 „	0,01 „ „ „ „	stirbt						
			nach 20 Stunden.						
Maus 477	0,1 ₂ ccm Normalserum nach 18 St.	0,01 ccm Kultur subcut.	stirbt						
			nach 20 Stunden.						

Die Infektion in diesem Versuche wurde mit Passage 4 vorgenommen.

Während das Milzbrand-Aggressin nicht die Fähigkeit besitzt, das Hühnercholera-Immunserum in seiner Wirkung zu beeinträchtigen, verhält sich das Pneumokokken-Aggressin genau so wie das Hühnercholera-Aggressin, indem es das Immunserum seiner Schutzkraft beraubt. Es besteht also, wie vorausgesagt, keine Spezifität. Dieses Fehlen der Spezifität hat jedoch weder für die Infektionsbeförderung noch für die Paralysisierung des Immunserums durch das Aggressin irgendwelche Bedeutung, wenn man bedenkt, daß bei der Hühnercholera-Infektion bzw. Immunität nur das Hühnercholera-Aggressin im Organismus gebildet wird und wirkt.

Nachdem, wie wir glauben, uns auf Grund der zahlreichen Versuche, die wir im vorangehenden mitgeteilt haben, die Berechtigung zusteht, im Hühnercholera-Immunserum zwei Komponenten anzunehmen, ist es nötig, noch einige Fragen theoretischer Natur zu diskutieren, zunächst die, welcher der beiden Komponenten die über- und welcher die untergeordnete Bedeutung zukommt. Es ist ganz zweifellos sichergestellt, daß die bakteriziden Immunkörper gegenüber einer Reihe von Mikroorganismen eine ausreichende und hohe Immunität bewirken, so in erster Linie gegenüber den Bakterien der Cholera- und Typhusgruppe. Die Haupteigentümlichkeit dieser Mikroorganismen als Infektionserreger ist ihre geringe Virulenz. So gelingt es nur ganz ausnahmsweise, bei Cholera mit

weniger als $\frac{1}{10}$ Öse und bei Typhus mit weniger als $\frac{1}{50}$ Öse Agarkultur (also einer ganz enormen Bakterienmenge) eine Infektion zu erzielen. Nun ist aber das Hauptcharakteristikum der bakteriziden Immunkörper ihre rasche Wirksamkeit an bestimmten Orten im Organismus, insbesondere in der Blutbahn und im Peritoneum, ihre Wirkungsdauer ist aber, wie die bereits erwähnten Versuche von Pfeiffer und Friedberger ergeben haben, nur eine sehr kurze, so daß Keime, welche den Bakteriolysinen entgehen, und dies ist stets der Fall, längere Zeit am Leben bleiben. Daß diese Keime von ihren Schlupfwinkeln aus (Netz, Organe) nicht hinterher eine Infektion veranlassen, liegt aber an ihrer geringeren Virulenz. Wenn z. B. von 1 Öse Cholera selbst $\frac{1}{30}$ Öse der bakteriolytischen Wirkung des Immunserums entgehen würde, so würde trotzdem das Tier wenig Schaden nehmen, da diese Menge noch immer die untertödliche Dosis darstellt. Bei Bakterien von hoher Virulenz hingegen werden die nicht sofort abgetöteten Keime stets nachträglich infizieren. Daß dies in der Tat der Fall ist, zeigen die Versuche mit El Tor. Gegenüber diesem Keim, der zwar keine außerordentlich hohe Virulenz besitzt, aber doch in der Dosis von $\frac{1}{100}$ Öse tötet, gelingt die passive Immunisierung mit einem bakteriziden Immunserum bei weitem nicht so prompt wie bei echter Cholera. Oft unterliegen nämlich, obzwar im Peritoneum das typische Pfeiffersche Phänomen zu konstatieren ist, die Tiere nachher der Infektion. Noch deutlicher tritt diese Erscheinung beim Bacillus suipestifer hervor. Obzwar es leicht gelingt, gegenüber diesem Mikroorganismus ein bakterizides Immunserum herzustellen, reicht dieses doch in den meisten Fällen nicht aus, einen dauernden Schutz zu gewähren. Denn infolge der hohen Virulenz, die dieser Keim oft für Meerschweinchen besitzt, sterben die passiv immunisierten Tiere fast ausnahmslos, wenngleich sie die Kontrolltiere um mehrere Tage überleben. Wie viel eher müßten nun die erwähnten Umstände beim Hühnercholerabazillus eintreten, welcher in der geringsten Menge akut tötet, und bei welchem die bakteriziden Stoffe nur eine geringe Wirksamkeit aufweisen. Es ist klar, daß hier nie eine passive Immunität zu erzielen wäre, wenn die bakteriziden Immunstoffe die einzig wirksamen wären.

Wir konnten auch den direkten Nachweis erbringen, daß die Bakterizidie allein keinen ausreichenden Schutz bedingt, und zwar durch die Prüfung des Immuserums V. Dieses versagt im Tierkörper vollkommen, obzwar es jene Menge von bakteriziden Stoffen besitzt, die unsere im Tierversuche hochwirksamen Immusera aufweisen. Der dauernde Schutz, den das Hühnercholera-Immuserum bietet, ist also seinen antiaggressiven Eigenschaften zuzuschreiben, die Wirkung der bakteriziden Antikörper hingegen nur eine sehr beschränkte, welche nur bedingt, daß bei intraperitonealer Infektion mit einer großen Bakterienmenge die Keimzahl so weit herabgedrückt wird, daß die momentan einsetzende Vermehrung unterbleibt und die antiaggressive Komponente Zeit gewinnt, die Vermehrung der Bakterien zu hemmen.

Worauf es beruht, daß die antiaggressive Komponente längere Zeit auf den Organismus zur Entfaltung seiner Schutzkraft einwirken muß, ob es sich um eine bloße Resorption handelt, oder erst bestimmte Zellen des Organismus in irgendeiner Weise beeinflußt werden müssen, können wir vorderhand nicht entscheiden. Es ist sicherlich von großer Wichtigkeit, diesen Punkt genauer zu erforschen.

Über die Wirkungsweise des antiaggressiven Bestandteiles des Hühnercholera-Immuserums können wir bis jetzt nichts Bestimmtes aussagen. Soviel ist jedoch sicher, daß, was sowohl aus unseren früheren Untersuchungen als auch aus den Versuchen aller übrigen Autoren, insbesondere von Sulima, hervorgeht, das Immuserum die Bakterien im Körper nicht rasch abtötet. Es handelt sich vielmehr um einen Wachstumsstillstand der injizierten Keime oder um eine langsame, nicht zum Tode führende, hauptsächlich lokale Vermehrung. An der Verhinderung der Vermehrung sind augenscheinlich die Leukozyten in erster Linie beteiligt, wenn auch von einer Phagozytose nur wenig zu sehen ist. Dies ist auch der Grund, daß wir den phagozytosebehindernden Stoffen des Immuserums nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt haben. Obgleich es uns ferne liegt, ihr Vorhandensein zu leugnen, so konnten wir uns doch in Reagenzglasversuchen (Methodik von Neufeld) von ihrer spezifischen Vermehrung gegen unseren Stamm nicht

überzeugen. Da außerdem im Tierkörper von Phagozytose wenig zu sehen ist, und schließlich aus dem mit Bakterien behandelten und trotzdem schützenden Serum auch die bakteriotropen Immunstoffe entfernt sein müßten, so könnten diese höchstens eine minderwertige oder sekundäre Rolle spielen. Trotzdem aber möchten wir die Beteiligung der Leukozyten an der Schutzwirkung des Immunserums nicht in Abrede stellen. Es ist heute sichergestellt, daß die Leukozyten außer durch Phagozytose auch durch Abgabe ihrer keimfeindlichen Stoffe wirken, sei es, daß es nach Art einer Sekretion im Sinne von R. S c h n e i d e r, sei es dadurch, daß die Bakterien das Reizmittel für die Abgabe darstellen (Aphagozydie). Daß jedoch die Leukozyten allein gegenüber virulenten Hühnercholera Bazillen im Tierkörper machtlos sind, wissen wir aus zahlreichen früheren Versuchen, welche uns lehrten, daß selbst bei den von Natur aus widerstandsfähigen Meerschweinchen eine Ansammlung von Leukozyten in der Bauchhöhle keinen Schutz gewährt. Wenn wir nun ein Zusammenwirken von Immunserum und Leukozyten ohne Phagozytose annehmen wollen, so stößt das nach unseren heutigen Kenntnissen auf Schwierigkeiten. Denn eine Stimulation der Leukozyten durch das Immunserum ist deshalb schwer anzunehmen, weil diese ja als Allgemeinwirkung nichtspezifisch sein könnte, in dem Sinne nämlich, daß das Hühnercholera-Immunserum gegen alle jene Mikroorganismen schützen müßte, welche der Leukozytenwirkung unterliegen. Eher schon könnte man sich vorstellen, daß das Immunserum die Bakterien in dem Sinne beeinflusst, daß sie die Leukozyten in hohem Maße zur Abgabe ihrer antibakteriellen Stoffe reizen, indem das Immunserum die Avidität der Bakterien zu den Leukozytenstoffen erhöht, welche ihrerseits die Vermehrungsfähigkeit unterdrücken. Diese Wirkung würde ebenso wie alle Immunserumwirkungen auf Bakterien spezifisch sein. Das Immunserum würde jedoch nicht auf die Bakteriensubstanz, zu welcher es gar keine Beziehungen aufweist, einwirken, sondern auf das von den Bakterien gebildete Aggressin. Die Paralyisierung desselben würde dann erst die Bakterien den Leukozytenstoffen in der oben angedeuteten Weise zugänglich machen. Diese Auffassung würde auch erklären, weshalb

das Aggressin in nicht spezifischer Weise das Immunserum paralyisiert, weil eben alle jene Momente, welche die Leukozytenwirkung stören, und hierzu sind offenbar die verschiedenen Aggressine (Exsudate) in mehr oder weniger starkem Maße befähigt, auch die Immunserumwirkung aufheben. Wir wollen uns nicht verhehlen, daß die hier diskutierte Anschauung nur spekulativer Natur ist, die wir vorderhand noch nicht durch Experimente stützen können.

Zum Schlusse wollen wir noch die Frage erörtern, ob auch andere Immunsera antiaggressiv wirken und dieselben Eigenschaften wie das Hühnercholera-Immunserum aufweisen. Was die antiaggressiven Immunstoffe prinzipiell von allen anderen Immunkörpern unterscheidet, ist ihre fehlende Avidität zu den Bakterienleibern, und deshalb ist auch ihr wichtigstes Charakteristikum, daß sie durch Bakterienbehandlung aus einem Immunserum nicht entfernt werden können. Nach den bisherigen Untersuchungen wird außer dem Hühnercholera-Immunserum auch das Milzbrand-(B a i l) und das Schweinerotlauf-Immunserum (S p a e t) durch Bakterienbehandlung nicht abgeschwächt. In neuerer Zeit wurde auch das Pest-Immunserum von V a y nach der Richtung hin geprüft, und der Autor kommt zu dem Schlusse, »daß durch die Behandlung mit getrockneten Bazillen die Wirksamkeit des Serums verringert wird«. Diese Versuche verdienen infolge ihrer genauen Durchführung eine eingehendere Besprechung.

V a y hat drei Pest-Immunsera mit ungemein großen Massen getrockneter Pestbazillen 3 bis 4 mal mehrere Tage lang behandelt und nach Entfernung der Bakterien die Sera geprüft. Sicherlich ist es angezeigt, wie es ja auch wir getan haben, große Bakterienmengen zur Behandlung zu verwenden, um mit Sicherheit Aufschluß zu erlangen, ob die Schutzstoffe wirklich entfernt sind. Nimmt man jedoch gar zu große Bakterienmassen, so läuft man Gefahr, das Immunserum in nicht spezifischer Weise derart zu verändern, daß eine spezifische Abschwächung vorgetäuscht wird. Denn es ist leicht möglich, daß aus den Bakterien so viel in Lösung geht, daß ein konzentrierter Extrakt entsteht, der entweder die Tiere durch Vergiftung oder durch Bindung von Schutzstoffen schwächt, insbesondere wenn man so kleinen Tieren, wie Mäusen,

0,1 bis 0,25 ccm des Serums injiziert. Oder es kann auch der Fall eintreten, daß die in Unmassen vorhandenen Bakterien als nicht spezifische Absorbentien wirken, insbesondere dann, wenn man die Sera noch verdünnt. Das Resultat ist dann nicht eine spezifische Behandlung, sondern eine Mißhandlung des Serums. Es kommt ja gar nicht darauf an, die Immunkörper quantitativ vollkommen zu entfernen, was insbesondere bei Immunseris, die in Bruchteilen von Milligrammen wirken, in der Tat sehr schwer ist, sondern man kann sich auch nach schonenderer Behandlung leicht durch Titration vom Verlust des Schutzwertes überzeugen, und diese ist bei Immunkörpern, die von den Bakterien gebunden werden, auch nach einer einmaligen Behandlung mit nicht großen Bakterienmengen ein sehr starker. Darin liegt ja gerade das Wesen der spezifischen Bindungskraft der Bakterien, daß sie große Mengen von Antistoffen absorbieren.

Wenn wir nun die Versuche von V a y durchsehen, so merken wir, daß dieser Autor in der Tat von nicht spezifischen Einflüssen getäuscht wurde. Denn der Versuch mit Serum A, dem am intensivsten behandelten Serum, zeigt, daß die mit 0,25 behandelte Maus bereits nach einem Tag stirbt, also viel früher als die Kontrollen, welche erst nach 66 bis 72 Stunden der Infektion erliegen, während die mit der Dosis 0,1 des behandelten Serums am Leben bleibt. Auch Serum B, ein weniger intensiv behandeltes Serum, zeigt ein ähnliches Verhalten, indem hier ebenfalls die Maus mit der höheren Serumdosis von 0,25 stirbt, allerdings erst nach acht Tagen, die mit 0,1 jedoch wieder am Leben bleibt. Bei Serum D, das verhältnismäßig am schonendsten behandelt wurde, bleibt die mit 0,2 injizierte Maus am Leben, während die mit 0,1 nach drei Tagen stirbt. Dieses Serum wurde jedoch auf ein Viertel verdünnt. Es geht also daraus hervor, daß die höhere Immunserumdosis sicherlich in nicht spezifischer Weise verändert wurde, und zwar derart, daß sie giftig wirkt. Darauf weisen einmal die Angaben des Autors hin, welcher die Tiere, die nur mit den behandelten Seris injiziert wurden, sehr krank werden sah, und dann der Umstand, daß die mit dem intensivst behandelten Serum injizierte Maus so akut starb. Es ist jedoch auch denkbar, daß der mit dem Immun-

serum injizierte Bakterienextrakt einen Teil der Schutzkräfte des Tieres unwirksam gemacht hat, was uns von Bakterienextrakten wohl bekannt ist. Daß hierbei eine spezifische Bindung von Immunkörpern auszuschließen ist, beweist mit aller Klarheit die Tatsache, daß die geringere Dosis von 0,1 ccm der behandelten Sera, welche die Grenzdosis darstellt, schützt. Ja, das behandelte Serum wirkt sogar noch eine Woche nach Injektion deutlich schützend und übt selbst eine Heilwirkung aus. So geht es aus den sorgfältigen Versuchen von V a y mit aller Sicherheit hervor, daß das Pest-Immunserum durch intensive Behandlung mit Bakterien seiner spezifischen Immunkörper nicht verlustig wird, daß es also den antiaggressiven Immunseris zuzurechnen ist.

Daß bei den genannten Immunseris (Milzbrand, Schweinerotlauf, Pest) die zeitlichen Unterschiede zwischen der Injektion des behandelten Immunserums und der Infektion keine Rolle spielen, ist daran gelegen, daß diese Mikroorganismen eine nicht so stürmische und rasch zum Tode führende Infektion veranlassen wie der Hühnercholeraabazillus.

Infolge der Konstatierung zweier verschiedenartig wirksamer Komponenten im Hühnercholera-Immunserum ergibt sich die Notwendigkeit, auch andere Immunsera daraufhin zu untersuchen, insbesondere ob nicht auch andere Schutzsera antiaggressive Stoffe aufweisen. Das Streptokokken-Immunserum, welches wir nach der Richtung hin geprüft, besitzt keine antiaggressive Komponente, sondern verdankt ausschließlich den phagozytosebefördernden Stoffen seine Schutzkraft. Immerhin wäre es jedoch möglich, daß sich andere Heilsera anders verhalten.

Wir möchten nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß jene Bakterien, gegen welche in erster Linie antiaggressive Schutzstoffe in Kraft treten (Hühnercholera, Schweinerotlauf, Pest, Milzbrand), echte Seuchenerreger darstellen, d. h. Mikroorganismen, welche bei Tieren spontan Epidemien veranlassen.

Zusammenfassung.

1. Das Hühnercholera-Immuneserum verliert, wenn es mit abgetöteten Hühnercholeraabazillen behandelt wird, seine Schutzwirkung vollkommen, wenn man die Infektion und Immunisierung gleichzeitig vom Peritoneum aus vornimmt, und wenn die Infektionsdosis so hoch gewählt ist, daß die Mäuse binnen 12 Stunden der Infektion erliegen.

2. Das mit Bakterien behandelte Immuneserum erweist sich auch abgeschwächt, wenn die Immunisierung und Infektion gleichzeitig von der Subcutis aus vorgenommen wird, doch bei weitem nicht in dem Maße wie bei intraperitonealer Infektion.

3. Wird jedoch das behandelte Immuneserum subcutan injiziert und die Infektion 18 Stunden später intraperitoneal vorgenommen, so zeigt das Immuneserum entweder gar keinen oder nur einen geringen Schutzverlust, auch wenn zur Infektion vieltausendfach tödliche Dosen verwendet werden.

4. Wird die Immunisierung intraperitoneal und die Infektion 18 Stunden später subcutan vorgenommen, so ist eine Abschwächung des behandelten Immuneserums auch bei vieltausendfach tödlichen Dosen nicht zu konstatieren.

5. Auch bei gleichzeitiger mit der Immunisierung vorgenommenen intraperitonealen Infektion bleibt das behandelte Immuneserum wirksam, wenn die Infektionsdosis so gewählt wird, daß die Tiere nicht innerhalb 12 Stunden, sondern erst nach 18 bis 24 Stunden sterben.

Diese eben beschriebenen Differenzen bei örtlich und zeitlich verschiedener Infektion und Immunisierung lassen sich erklären, wenn man im Hühnercholera-Immuneserum zwei Komponenten annimmt, und zwar eine bakterizide und eine antiaggressive. Erstere tritt am deutlichsten bei gleichzeitig mit der Immunisierung vorgenommener intraperitonealer Infektion in Kraft und läßt sich leicht von Bakterien spezifisch absorbieren. Letztere wirkt erst dann, wenn sie einige Stunden lang den Organismus beeinflußt hat, außerdem wird sie durch Bakterienbehandlung entweder gar nicht oder nur in geringem Grade abgeschwächt.

27**

Bei Berücksichtigung dieser Umstände ist Punkt 1. so zu erklären, daß infolge der Absorption der Bakteriolyse die Hühnercholera-Bakterien im Peritoneum sich sofort vermehren, so daß zur Zeit, wo die antiaggressive Komponente wirkt, die Bakterienvermehrung schon so weit fortgeschritten ist, daß an eine Wirkung derselben nicht mehr zu denken ist. Da jedoch bei subcutaner Infektion (Punkt 2.) die Wachstumsintensivität der Hühnercholera-Bazillen keine so starke ist, so wird bei dieser Infektionsart die antiaggressive Komponente mitwirken und die Abschwächung des Immunserums verringern.

Bei vorzeitiger Injektion des Immunserums (Punkt 3. und 4.) wird die antiaggressive Komponente voll in Kraft treten und trotz Fehlens der bakteriziden Immunkörper die Infektion verhindern.

Dies wird auch der Fall sein (Punkt 5.), wenn bei gleichzeitiger intraperitonealer Infektion die Injektion derart gering ist, daß die Vermehrung nicht sofort beginnt, wodurch die antiaggressive Komponente Zeit gewinnt, ihre Schutzwirkung zu entfalten.

Literatur.

- Citron u. Pütz, Zeitschr. f. Hygiene Bd. 56.
 Bessau, Centralbl. f. Bakt. Bd. 57.
 Huntermüller, Centralbl. f. Bakt. Bd. 42.
 Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. Bd. 37.
 Sulima, Annales de l'Inst. Pasteur 1909.
 Titze, Dissertationsschrift aus der Tierärztlichen Hochschule in Berlin.
 Ungermann u. Kandiba, Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. 50. Referate. Bericht d. Mikrobiol. Vereinigg.
 Weil u. Braun, Folia serologica Bd. II, 1909.
 Weil, Archiv f. Hygiene Bd. 52, 54. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 56.
 Vay, Centralbl. f. Bakt. Bd. 55.
-

Über die Beschleunigung der Nitritproduktion in Kulturen von Cholera-vibrionen in Nitratbouillon durch deren vorhergehendes Wachstum auf verunreinigtem Boden.

Von
Mnoucha Chwilewizky, geb. Kviat.

(Aus dem Laboratorium von Prof. R. Emmerich in München.)

(Bei der Redaktion eingelaufen am 24. August 1912.)

Prof. Dr. Schneidewind und Dr. Heinze¹⁾ haben durch zahlreiche Untersuchungen konstatiert, »daß das oft stark reduzierte N-Bindungsvermögen bzw. die öfters, wohl aber nur scheinbar vollständig verloren gehende N-Bindungsfähigkeit von ‚Azotobakter‘ durch geeignete Passagekulturen in ursprünglicher Stärke regeneriert werden kann«.

Besonders günstig wirkten auf die Erhöhung des N-Bindungsvermögens: gewisse Erden, Humusstoffe, Amide und $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$.

Auch Bredmann²⁾ fand, »daß es bei Bac. asterosporus ebenso wie bei Bac. amylobacter gelingt, die im Laufe einer längeren Kultur verloren gegangene Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen und elementaren Stickstoff zu assimilieren, wieder zurückzugewinnen, wenn man die geschwächten Kulturen auf bei 150° C sterilisierte Gartenerde überträgt und 4 Wochen darin beläßt«.

1) Landwirtschaftl. Jahrbücher 1910. Ergänzungsbd. III. Arbeiten der Agrikult. chem. Versuchsstation Halle, S. 327 und 343.

2) Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1909. Bd. 22, S. 80.

Endlich zeigte Krzemieniewski¹⁾, daß ein Zusatz von Humussäuren aus Erde — gleichgültig ob in Gestalt von freier Säure oder von K, Na oder Ca-Salzen — eine namhafte Steigerung der Stickstoffbindung durch den Azotobacter, der in Reinkultur auf gewöhnlichen, stickstofffreien Nährböden stets nur geringe Mengen von Stickstoff zu binden vermag, herbeiführt. Eingehende Versuche führten den Verfasser zu dem Schluß, »daß die Humusstoffe nicht als Stickstoffquelle, sondern auf irgendeine andere, vorläufig unbekannte Weise den Azotobacter zu einer üppigeren Entfaltung seiner Lebensfunktionen und zu einer energischeren Stickstoffbindung anregen. Wie sich dieser Einfluß tatsächlich äußert, darüber könnte man vorläufig nur hypothetisch urteilen«. Auch beim Granulobacter steigerte ein Zusatz von Humus die Fähigkeit der Stickstoffbindung.

Die Cholerabazillen haben bekanntlich die Fähigkeit, Nitrate zu Nitriten zu reduzieren, und nach Emmerich und Juschiana²⁾ zeigen verschiedene Choleravibrionenstämme eine große Verschiedenheit in bezug auf die in einer bestimmten Zeit in nitrathaltigen Kulturflüssigkeiten gebildeten Nitritmengen, auch wenn alle anderen Umstände des Versuches die gleichen sind. Es gelingt auch Choleravibrionen durch bestimmte Einwirkungen, z. B. durch freie salpetrige Säure- oder durch Salzsäurelösungen so zu schädigen, daß sie in Kulturflüssigkeiten von bestimmtem Nitratgehalt nur noch sehr geringe Mengen von Nitrit bilden und die gesamte Menge der Nitrate selbst im Laufe von Wochen nicht mehr völlig in Nitrite überzuführen vermögen, während dieselbe von anderen Choleravibrionenstämmen schon innerhalb 48 Stunden zu Nitrit reduziert wird.

Es war mit Rücksicht auf die Beziehung der Cholera zum Boden von Interesse zu entscheiden, ob Passagekulturen der Choleravibrionen auf Böden eine ähnliche Wirkung auf die Wachstumsenergie und die Nitritproduktion abgeschwächter Choleravibrionen äußern, wie es durch Erdpassagekulturen für die Stick-

1) Zentralbl. f. Bakt. Abteil. II. Bd. 1909. XXIII, S. 46.

2) Archiv f. Hygiene 1912, Bd. 76, S. 12.

stoffbindung des Bac. amylobacter, Bac. asterosporus usw. konstatiert worden war.

Mit Rücksicht auf die epidemiologischen Fragen erschien es angezeigt, für die Passagekulturen einen Boden zu wählen, der nach unserem gegenwärtigen Wissen in bezug auf mechanische und chemische Beschaffenheit (Verunreinigung), sowie hinsichtlich des Feuchtigkeitsgrades günstige Entwicklungsbedingungen für Choleravibrionen bietet.

Auf Grund der folgenden Tabellen wählte ich zur Entnahme der Bodenproben die an der nördlichen Peripherie der Hauptstadt München gelegene Maxvorstadt II, in welcher bei der Choleraepidemie 1873/74 nicht nur die Cholerasterblichkeit im Verhältnis zur Zahl der Erkrankten, nach dem Hackenviertel am höchsten, sondern auch die Verunreinigung der Brunnenwässer (insbesondere nach dem Salpetersäuregehalt) und somit voraussichtlich auch die des Bodens am stärksten war und in welcher es noch Straßen gibt, die nicht kanalisiert sind, während letztere im Hackenviertel, welches nach der Tabelle eigentlich zuerst in Betracht kommt, nicht mehr zu finden sind.

Stadtbezirk	Erkrankungen an Cholera	Todesfälle	Von 100 Erkrankten starben	Mittl. NO ₃ H-Gehalt des Brunnenwassers pro Liter in mg
1. Hackenviertel . . .	232	130	56,0	138 (nach Wagner 210)
2. Maxvorstadt II . . .	126	69	54,8	143
3. Maxvorstadt I . . .	294	154	52,4	171
4. Maxvorstadt III . . .	78	39	50,0	123
5. Isarvorstadt II . . .	391	194	49,6	—
6. Isarvorstadt I . . .	172	84	48,8	43 (?)
7. Angerviertel	234	114	48,7	68
8. Kreuzviertel	175	85	48,6	74
9. Graggenuerviiertel . .	338	163	48,2	65
10. Giesing	50	24	48,0	30
11. St. Annaviertel . . .	308	142	46,3	28
12. Haidhausen	315	138	43,8	26
13. Ludwigsvorstadt . . .	133	55	41,3	8—16 im größeren 46 im kleineren Teil
14. Vorstadt Au	183	73	39,8	25

Nach eingehender Besichtigung der Straße wählte ich das Haus Nr. 3 der Fallmeyerstraße zur Entnahme des verunreinigten Bodens. Die erste Probeentnahme wurde am 28. Juli 1911, die zweite am 18. Dezember 1911 ausgeführt.

Die Fallmeyerstraße im jetzigen 26. Stadtbezirk zieht von der Hohenzollernstraße, mit der Belgradstraße parallel laufend, nach Riesenfeld, die Herzog-, Klemens-, Destouches- und Karl Theodorstraße kreuzend. Das Haus Nr. 3 ist eines jener kleinen einstöckigen Wohnhäuser, wie sie, mit Stall, Hof, kleinem Garten und einigen Schuppen versehen, an der Peripherie der Stadt viel zu finden waren und welche stets von kleinen Leuten bewohnt wurden, die entweder Ökonomie oder, wie im vorliegenden Falle, ein Fiakergeschäft o. dgl. betrieben.

Aus der nebenstehenden Skizze sind die für die Verunreinigung des Bodens in der Umgebung des Hauses maßgebenden Verhältnisse zu ersehen.

Der vordere Teil des Hofes ist bis zum Wagenstall hin nicht gepflastert. Die Bodenoberfläche besteht aus sandigem Kies, dessen schwarzgraue Farbe auf beträchtliche Verunreinigung schließen läßt. Der Boden hat die gleiche mechanische Beschaffenheit bis hinab zur Grundwasser führenden Flinzschichte.

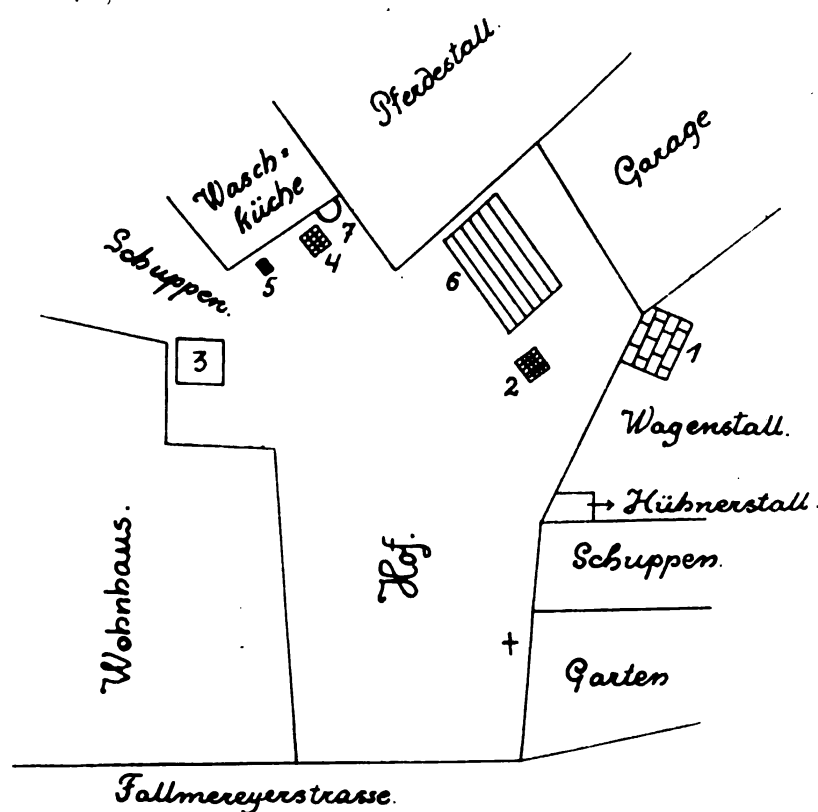
Als ständige Verunreinigungsquellen des Bodens kommen in Betracht:

1. Eine durchlässige Abortgrube¹⁾ (wenn auch betoniert). Dieselbe ist 8 m tief und 8 qm groß (3.).
2. Eine Versitzgrube (4.) vor der Waschküche, wozu der frühere Pumpbrunnen verwendet wird. Diese Versitzgrube nimmt alles Schmutzwasser des Hauses (Wasch-, Putz- und Scheuerwasser), sowie die Küchenabwässer und diejenigen des Waschhauses auf.
3. Eine große Versitzgrube (1.) an der vorderen Wand des Wagenstalls, welche die von der Straße her und im Hof zusammenlaufenden erheblichen Mengen von Regenwasser der großen Dachflächen aufnimmt; außerdem aber auch viel Schmutzwasser,

1) Jede mit Mörtel oder Zement gemauerte Abortgrube wird mit der Zeit undicht, da schon freie Kohlensäure den kohlensauren Kalk des Mörtels als doppelkohlensauren Kalk auflöst usw.

welches im Hofe, im Pferdestall, in der Garage, im Wagenschuppen usw. anfällt und welches stark verunreinigt ist, weil immer Mist neben der Pferdemitgrube, sowie die Exkremente vieler Hühner und Tauben im Hofe auf der Bodenoberfläche herumliegen. Auch der flüssige Teil des Inhalts der Pferdemitgrube gelangt in das kleine Reservoir (2.) und aus diesem in die Hauptversitzgrube, mit der es durch ein Tonrohr kommuniziert. Dieses kleine Reservoir war bei unseren Besuchen stets bis etwa 20 bis 30 cm unter der oberen Umrandung (Bodenoberfläche) gefüllt und es konnte daraus geschlossen werden, daß auch die etwa 4 bis 5 m tiefe damit kommunizierende Hauptversitzgrube fast ganz mit Jauche gefüllt war.

Das Grundwasser steht in diesem Terrain in einer Tiefe von ca. 4,00 m.



1. Hauptversitzgrube. — 2. Reservoir für Hofschmutzwasser mit Überlauf in 1. — 3. Abortgrube. — 4. Versitzgrube, früher Pumphrunnen. — 5. Kleines Schmutzwassersammel-Reservoir, kommunizierend mit 4. — 6. Pferdemitgrube. — 7. Leitungswasser.

Durch die durchlässige Abortgrube und die beiden großen Versitzgruben wurden hauptsächlich die tieferen Schichten des Bodens in etwa 3 m Tiefe bis zum Grundwasser fortgesetzt mit Jauche durchtränkt. Durch diese Art der Bodenverunreinigung von unten her werden in trockenen Zeiten ähnliche Grade und Arten der Verunreinigung der Bodenoberfläche durch den kapillar aufsteigenden Flüssigkeitsstrom geschaffen wie bei den Laboratoriumsexperimenten mit den Emmerichschen Bodenröhren. In trockenen Monaten, wie im Juli 1911 bis zum 20. August, entsteht in den Poren der Bodenoberfläche eine konzentrierte und qualitativ geeignete Nährlösung, in welcher sich Typhus- und Cholerabazillen zu vermehren vermögen. Eine Probe des in der Fallmeyerstraße Nr. 3 am 18. Dezember 1911 entnommenen Bodens wurde bei 400 Atm. ausgepreßt und durch Berkefeldfilter filtriert, Choleravibrionen in je 3 ccm des Preßsaftes eingesät, Gelatinezählplatten hergestellt und der Preßsaft bei 36° C aufbewahrt.

Aus 1 Öse Preßsaft (= 0,007 ccm) entwickelten sich sofort nach der Infektion 16 200 Chol.-Vibr.-Kolonien, 24 Stunden nach der Infektion 290 000 Chol.-Vibr.-Kolonien, 48 Stunden nach der Infektion 756 000 Chol.-Vibr.-Kolonien. Die Choleravibrionen vermehrten sich also in dem keimfrei filtrierten Bodenpreßsaft.

Wenn man über die 7 qcm große Bodenoberfläche im Emmerichschen Bodenversuch einen langsamen trockenen Luftstrom leitet, wie er bei windstillem Wetter im Freien in Betracht kommt, so verdunsten in 24 Stunden etwa 8 g Wasser. Von 1 qm Bodenfläche werden unter gleichen Bedingungen 11 429 g in 24 Stunden und in 1 Monat rd. 343 kg Wasser verdunsten. In den sechs unserer Probeentnahme vorausgehenden Monaten wurde also die Bodenschichte, welche sich unter 1 qm Bodenoberfläche (Fallmeyerstraße Nr. 3) bis hinab zum Grundwasser befindet, mit ca. 2057 l Wasser in denkbar sorgfältigster und vollkommenster Art durch den aufsteigenden kapillaren Flüssigkeitsstrom ausgewaschen und so zweifellos alle

Substanzen, welche in dieser Bodenschichte löslich waren und im Laufe dieser Zeit löslich geworden sind, an die Bodenoberfläche geführt.

Diese Auslaugung des Bodens durch den Tag und Nacht ununterbrochen aufsteigenden, kapillaren Bodenwasserstrom verdient in landwirtschaftlicher und hygienischer Beziehung besondere Beachtung.

Nach diesen Darlegungen bot zur Zeit der Probeentnahme der Boden von der Hofoberfläche des Hauses Nr. 3 der Fallmeyerstraße sowohl in bezug auf seine mechanische Beschaffenheit (Porosität usw.) sowie hinsichtlich der Feuchtigkeit und der Art und Größe der Verunreinigung mit häuslichen und exkrementiellen Abwässern günstige Entwicklungsbedingungen für Choleravibrionen.

Auch die zeitlichen Faktoren, wie insbesondere die Regemengen und das hohe Sättigungsdefizit der Luft, trugen dazu bei, daß zur Zeit der Entnahme der Bodenproben (am 28. Juli und 18. Dezember 1911) von der Bodenoberfläche bis in eine Tiefe von 15 bis 20 cm, diese letztere in sehr hohem Grade mit anorganischen und organischen Nährstoffen für Choleravibrionen angereichert war.

Den Januar, April und Juni ausgenommen, ergab sich auch in bezug auf die Lufttemperatur in allen Monaten ein Überschuß von 2 bis 4°, im Dezember sogar von 4 bis 5° über den langjährigen Durchschnitt. Das ganze Jahr 1911 zeichnete sich durch ungewöhnlich warmes Wetter bei gleichzeitiger Niederschlagsarmut« und Lufttrockenheit aus¹⁾.

Die folgenden Angaben über die Regemengen lassen ersehen, daß zweifellos den ganzen ganz ausnahmsweise trockenen Juli hindurch bis zum 21. August ein aufsteigender kapillarer Flüssigkeitsstrom im Boden wirksam war, welcher der Bodenoberfläche große Mengen jener Nährstoffe aus der Tiefe des Bodens zuführte; denn die einzige etwas erheblichere Regenmenge im Juli,

1) Übersicht über die Witterungsverhältnisse in Bayern 1911 (Meteorolog. Zentralstation).

die am 14. Juli, nämlich von 14 mm, vermochte in der durch die vorausgegangene große Trockenheit des Winters und Frühjahrs ausgetrockneten, obersten Bodenschichte keine Abwärtsbewegung des Bodenwassers einzuleiten; sie trug im Gegenteil nur dazu bei, die kapillare Aufwärtsbewegung desselben zu unterstützen.

Ähnlich, wenn auch nicht ganz so günstig, waren die Verhältnisse in der ersten Hälfte des Dezember 1911.

Regenmengen vom 1. Juli bis 31. Dezember 1911.

(Nach den Berichten der Meteorologischen Zentralstation in München.)

	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
1.	10,4	—	—	3,6	—	0,1
2.	0,5	—	—	3,8	—	—
3.	6,1	—	—	0,2	—	—
4.	—	2,9	—	—	—	2,0
5.	—	0,2	—	1,7	—	1,0
6.	—	0,5	—	0,7	2,5	—
7.	—	—	—	—	—	—
8.	—	—	—	0,3	—	—
9.	—	—	—	8,2	—	1,6
10.	—	—	—	10,2	1,8	—
11.	—	—	—	—	23,0	1,6
12.	—	—	—	—	—	12,4
13.	—	—	—	—	1,8	—
14.	14,0	3,6	—	0,4	0,4	0,5
15.	—	—	0,5	—	—	—
16.	—	—	8,2	—	—	7,3
17.	—	—	1,8	—	—	—
18.	—	—	—	—	—	—
19.	—	—	—	—	0,7	—
20.	—	—	0,2	—	—	1,3
21.	—	2,9	11,3	—	4,0	—
22.	—	6,4	11,8	—	—	4,7
23.	—	20,5	17,5	—	—	12,0
24.	—	5,4	—	2,4	0,2	1,1
25.	—	0,6	0,1	2,0	25,1	2,8
26.	—	10,2	—	0,5	1,2	1,9
27.	—	1,3	—	—	—	7,0
28.	—	—	10,9	13,0	—	1,9
29.	0,6	—	15,9	1,5	—	2,8
30.	—	12,0	—	1,1	—	0,5
31.	16,6	—	—	—	—	2,1
	31,6	83,1	78,3	49,6	60,7	64,6

Die folgende Tabelle läßt ersehen, daß in den Cholerajahren Münchens, 1854 und 1873, die Jahressumme der Regenmenge unter dem Mittel von 33 Jahren war. Im Jahre 1866, in welchem in einzelnen Kreisen Bayerns Cholera herrschte, blieb München cholerafrei, was v. Pettenkofer auf die hohe Regenmenge dieses Jahres zurückführt. Das Jahr 1911 hatte eine noch geringere Regenmenge als die beiden Cholerajahre Münchens 1854 und 1873.

Regenmengen in München in Millimetern¹⁾.

Monat	1911	1854	1873	Cholerafreies Jahr 1866	Mittel aus den Jahren 1848—1880
Januar	23,2	26,8	6,8	30,5	37,56
Februar	37,8	50,8	51,0	59,1	34,09
März	19,9	28,6	32,5	83,5	46,41
April	46,4	35,4	53,7	65,9	59,43
Mai	132,0	125,0	122,3	63,6	91,95
Juni	121,0	106,0	132,0	129,3	112,86
Juli	31,6	110,3	74,7	136,3	108,15
August	83,1	116,6	171,7	127,7	106,75
September	78,3	20,1	65,9	77,8	63,48
Oktober	49,6	56,2	45,8	3,4	57,85
November	60,7	47,4	32,5	71,1	49,02
Dezember	64,6	62,5	11,8	52,3	37,07
	748,2	785,7	800,7	900,5	804,63

Die Verhältnisse für das Experiment wurden auch noch dadurch sehr günstig, vielleicht sogar etwas günstiger als unter natürlichen Verhältnissen gestaltet, daß wir den Boden von der Oberfläche bis in etwa 20 cm Tiefe entnahmen, so daß die bei stärkeren Niederschlägen von der Bodenoberfläche vorübergehend wieder in die genannte Tiefe zurückgeführten Nährstoffe mit im Experiment verwendet wurden. Da aber anderseits im Experiment manche Momente ungünstiger sind als unter natürlichen Verhältnissen, so darf man wohl sagen, daß in jenen Versuchen, bei denen der Boden im Experiment mit Wasser durch-

1) Beobachtungen der meteorolog. Stationen in Bayern von v. Bezold und Karl Lang. Bd. 4, S. 194.

tränkt wurde, im allgemeinen die gleichen Bedingungen gegeben waren wie in der Natur.

Es war daher auch mit Rücksicht auf die Beziehungen des Bodens zur Choleraverbreitung von Interesse festzustellen, welchen Einfluß die Passagekultur der Choleravibrionen gerade in diesem Boden auf die Wachstumsenergie und die Nitritproduktion äußert.

Bevor über diese Versuche berichtet wird, sind einige Angaben nötig über die

kolorimetrische Bestimmung der salpetrigen Säure durch alkoholische Indollösung.

Nach Dané¹⁾ lassen sich Nitrite im Wasser durch alkoholische Indollösung qualitativ nachweisen. Dané benutzt hiezu nach der Chemikerzeitung 34, S. 1057, eine Lösung von 0,02 g synthetischen Indols in 150 ccm 95 proz. Alkohol.

Ich habe die folgende Methode sowohl zum qualitativen Nachweis als zur quantitativen Bestimmung der Nitrite in Wasser und wässerigen Kulturflüssigkeiten für geeignet befunden. Zu 100 ccm des zu untersuchenden Wassers oder z. B. zu 0,1 ccm einer 24 Stunden bei 36° C gezüchteten Choleravibrionen-Nitratbouillon + 100 ccm nitritfreien Leitungswassers setzt man 1 ccm Schwefelsäure (1 : 1), mischt gut und fügt 5 ccm der oben erwähnten alkoholischen Indollösung (0,02 g Indol auf 150 ccm 95 proz. Alkohol) hinzu. Bei einer Verdünnung der salpetrigen Säure von 1 : 10 000 000 tritt sofort deutliche Rosafärbung ein, und selbst noch bei der Verdünnung 1 : 50 000 000 erhält man nach zirka 10 Minuten eine gerade merkbare Rosafärbung.

Man kann somit noch 0,002 mg salpetrige Säure in 100 ccm Wasser sicher nachweisen. Mengen von 0,01 und 0,015 oder von 0,015 und 0,02 mg in 100 ccm Wasser sind sicher zu unterscheiden. Bei größeren Mengen als 0,06 mg pro 100 ccm Wasser wird die Unterscheidung solcher Differenzen unsicher, weshalb man die Kulturflüssigkeit immer so weit verdünnen muß, daß

1) Bull. Soc. Chim. de France (4) 9, S. 354 bis 355.

100 ccm der Verdünnung nur 0,002 bis 0,06 mg salpetrige Säure enthalten.

Versuche.

Es wurden drei Serien von Experimenten ausgeführt. Bei der ersten Serie kam unreiner Boden aus der Fallmeyerstraße sowie reiner Boden aus dem gleichen Stadtteil, die beide bei 2 Atm. Dampfdruck sterilisiert wurden, zur Anwendung. Der Boden wurde meist 30 cm hoch in E m m e r i c h s c h e Röhren fest eingestampft und mit 0,5 proz. Natriumnitrat-Bouillon kapillar durchtränkt.

Bei der zweiten Serie wurde frisch entnommener, nicht sterilisierter Boden aus der Fallmeyerstraße mit Wasser durchtränkt verwendet, also unter natürlichen Verhältnissen gearbeitet.

Bei der dritten Serie wurde ein Boden aus der Plinganserstraße in Thalkirchen entnommen und in derselben Weise sterilisiert verwendet wie in der ersten Serie, aber mit Wasser kapillar durchtränkt.

Experimente mit dem am 28. Juli entnommenen verunreinigten Boden der Fallmeyerstraße Nr. 3, durchtränkt mit 0,5 proz. Nitratbouillon.

Experiment 1.

Eine E m m e r i c h s c h e Röhre wird mit unreinem Boden aus Nr. 3 der Fallmeyerstraße und zum Vergleich eine zweite mit reinem sandigen Kiesboden von einem Bauplatz, der im gleichen Stadtbezirk gelegenen Nordendstraße aus 1 m Tiefe, je 30 cm hoch unter Rütteln und Einstampfen gefüllt, in 0,5 proz. Nitratbouillon gestellt und nach kapillarer Durchfeuchtung des Bodens auf dessen Oberfläche Dejektions-Cholera vibriionen aus Graz am 27. XI. in einigen Tropfen verdünnter Bouillon aufgeimpft; beide Bodenhöhren werden alsdann bei 36° C in den Brutschrank gestellt und zur Kontrolle eine Probe der mit der gleichen Kultur geimpften 0,5 proz. Nitratbouillon (= »Nebenboden«).

Nach 3 Tagen, am 30. XI., wird wie folgt abgeimpft:

1. Vom unreinen Boden (Oberfläche) 2 Ösen in 40 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon.
2. Vom reinen Boden (Oberfläche) 2 Ösen in 40 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon.
3. Aus der Nitratbouillonkultur (Kontrolle »Nebenboden«) 10 Ösen in 40 ccm Nitratbouillon und zu letzterer noch einige Ösen sterilisierten reinen, sandigen Kieses gesetzt.

In diesen Proben wurden nun von 24 zu 24 Stunden die gebildeten Nitritmengen bestimmt und als salpetrige Säure berechnet, wobei sich folgende Resultate ergaben:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon

untersucht am:	nach Stunden						
	24	48	96	120	144	168	216
	November			Dezember			
	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.
Unreiner Boden	11,0	20,0	27,0	—	—	—	—
Reiner Boden	7,0	10,0	20,0	20,0	22,0	27,0	—
»Nebenboden«	7,0	8,0	15,0	20,0	20,0	20,0	27,0

Zur fortlaufenden Kontrolle der Reinheit der Cholera-vibrionen auf den beiden Bodenröhren und in der Kontrollprobe (»Nebenboden«) werden von den damit geimpften Nitratbouillonproben am 30. XI., 2. XII., 4. und 7. XII. aerobe Gelatineplatten und je 1 anaerobe Traubenzuckeragarplatte hergestellt. Sämtliche Kulturen haben sich als rein erwiesen. Am 7. XII., also nach 10 Tagen, waren die Cholera-vibrionen auf dem unreinen Boden abgestorben.

Auf der 0,5proz. Nitratbouillonprobe, die mit unreinem Boden geimpft wurde, nachdem sich die Cholera-vibrionen 3 Tage auf demselben befanden, war eine sehr üppige Oberflächenhaut von Vibrionen schon nach 24 Stunden gebildet, während sich auf der mit reinem Boden geimpften Nitratbouillon und auf der Kontrolle »Nebenboden« keine Spur von Hautbildung nach 24 Stunden der Kultur zeigte.

In Übereinstimmung hiermit steht auch die viel raschere Bildung von Nitrit durch die Vibrionen vom unreinen Boden gegenüber jener vom reinen Boden und der Kontrolle. Die Hautbildung auf der mit unreinem Boden beimpften Probe nahm bis zum 4. XII. an Dicke zu.

Während in der Kultur der Cholera-vibrionen, welche 3 Tage auf dem reinen Boden gewachsen waren, nahezu die gleichen Mengen salpetriger Säure gebildet wurden wie in jener der ebensolange in der Kontrollnitratbouillon gewachsenen, ging die Nitritproduktion in der Kultur jener Cholera-vibrionen, welche sich 3 Tage hindurch auf dem verunreinigten Boden vermehrt hatten, viel rascher vor sich, da bereits in 96 Stunden, oder 4 Tagen, die gesamte Nitratmenge der 0,5proz. Nitratbouillon in Nitrit übergeführt war, eine Leistung, zu welcher in der Kultur der Cholera-vibrionen vom reinen Boden 168 Stunden oder 7 Tage und in der Kontrolle sogar 216 Stunden oder 9 Tage erforderlich waren. Die Ursache dieser beträchtlichen Erhöhung des Vermehrungsvermögens und Beschleunigung der Nitritproduktion der Cholera-vibrionen aus dem verunreinigten Boden kann somit nur in der chemischen Beschaffenheit desselben liegen, da die mechanischen und physikalischen Verhältnisse des Bodens, die auf dem reinen und unreinen Boden die gleichen sind, ohne Einfluß darauf waren. Wir dürfen erwarten, daß durch weitere Untersuchungen diejenigen chemischen Substanzen ermittelt werden, welche die besonderen Ursachen der Erhöhung des Vermehrungsvermögens und der Beschleunigung der Nitritproduktion auf dem unreinen Boden sind.

Es wäre sehr wichtig gewesen, bei allen Versuchen die Zahl der Vibrionenzellen von Tag zu Tag zu bestimmen, um feststellen zu können, ob auf dem Boden nur eine Erhöhung der Vermehrungsfähigkeit stattfindet, oder zu gleicher Zeit auch eine Erhöhung des Nitritbildungsvermögens der einzelnen Vibriozellen. Da aber auf den mit Bodenpassagekultur beimpften Nitratbouillonproben schon nach 24 Stunden ein Oberflächenhäutchen gebildet ist, das sich nicht in Einzelzellen zerteilen läßt, so müßte man durch Schüttelkulturen das Ziel zu erreichen suchen. Diese müssen jedoch sehr heftig geschüttelt werden, da bei leichtem Schütteln an der Röhrenwandung stets dünne Häutchen gebildet werden. Es ist eine Aufgabe zukünftiger Untersuchungen, eine brauchbare Zählmethode auszuarbeiten, um unter Anwendung derselben diese Untersuchungen zu wiederholen und nicht nur die Nitritproduktion der Gesamtkultur, sondern auch das Nitritbildungsvermögen der einzelnen Vibriozellen quantitativ festzustellen¹⁾.

Experiment 2.

Dasselbe wurde am 9. XII. genau in derselben Weise ausgeführt wie der erste Versuch und das Ergebnis war, wie die folgende Tabelle zeigt, nahezu das gleiche.

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon

untersucht am:	nach Stunden				
	48	72	96	120	168
	Dezember				
	11.	12.	13.	14.	15.
Unreiner Boden	18,0	27,0	—	—	—
Reiner Boden	15,0	20,0	22,0	25,0	27,0
•Nebenboden•	12,0	—	22,0	22,0	27,0

In der 0,5 proz. Nitratbouillon, die mit Cholera-vibrionen, welche 3 Tage auf unreinem Boden gewachsen waren, beimpft worden war, zeigte sich schon nach 72 Stunden alles Nitrat zu Nitrit reduziert, während dies beim 1. Experiment scheinbar erst nach 96 Stunden der Fall war. Wäre aber bei letzterem der Nitritgehalt der Bouillon auch nach 72 Stunden bestimmt worden, dann hätte sich wohl das gleiche Resultat ergeben.

Auch bei diesem Versuch, welcher die aus dem 1. Experiment gezogenen Schlußfolgerungen in allem Detail bestätigt, wurde die Reinheit der Cholera-vibrionenkulturen auf den beiden Bodensäulen und in der Kontrollbouillon (•Nebenboden•) von Tag zu Tag durch aerobe und anaerobe Gelatine- und Traubenzuckeragar-Platte kontrolliert.

1) Wir mußten uns einstweilen darauf beschränken, aus dem Eintritt oder dem Ausbleiben einer Oberflächenhautbildung auf ein größeres oder geringeres Vermehrungsvermögen der Vibrionen zu schließen.

Versuche mit dem am 18. Dezember 1911 entnommenen Boden der Fallmeyerstraße Nr. 3, durchtränkt mit 0,5proz. Nitratbouillon.

Versuch 1.

Dieser Versuch wurde am 28. Februar ebenfalls genau so ausgeführt wie die vorangehend beschriebenen; jedoch war der unreine Boden im Hofe Fallmeyerstraße Nr. 3 nicht wie bei den vorigen Versuchen am 28. Juli, sondern erst am 18. Dezember von der Oberfläche bis in eine Tiefe von zirka 20 cm entnommen worden. Da es im ganzen Juli nur 31,6 mm regnete (während das Mittel aus 15 Jahren 112 mm beträgt), da ferner auch im August und Oktober die Regenmenge weit unter dem Mittel blieb und das ganze Jahr 1911 ein ausnehmend trockenes war, so darf angenommen werden, daß mit Ausnahme einiger Perioden, in denen, wie z. B. am 11. und 25. November, größere Regenmengen von 23 und 25 mm fielen, meistens ein aufsteigender kapillarer Wasserstrom im Boden vorhanden war, der nur in einigen regenreicheren Wochen in einen abwärts gerichteten verwandelt wurde.

Das war wohl der Grund, weshalb das folgende Experiment, ebenso wie die später beschriebenen, mit unsterilem und nur mit Wasser durchtränktem Boden ausgeführten, sehr günstige Resultate ergaben.

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon

untersucht am:	nach Stunden			
	24	48	72	96
	März			
	1.	2.	3.	4.
Unreiner Boden . . .	20,0	27,0	—	—
Reiner Boden . . .	12,0	18,0	24,0	27,0
»Nebenbodeen« . . .	12,0	19,0	25,0	27,0

Die Nitratbouillonkulturen, welche mit den Vibrionen des unreinen Bodens beimpft waren, zeigten starke Hautbildung auf der Oberfläche, während dies bei der Kontrollbouillon und bei der mit Cholera vom reinen Boden infizierten Nitratbouillon nicht der Fall war.

Man erkennt aus den obigen Zahlen, daß die Nitritproduktion in Nitratbouillon nach der Passagekultur auf dem am 18. Dezember entnommenen Boden eine raschere war, als nach der Passagekultur auf der am 28. Juli im gleichen Hof ausgehobenen Bodenprobe; denn die Kultur der Vibrionen, welche sich 3 Tage auf dem letztgenannten Boden befanden, hatte alles Nitrat der Bouillon erst nach 72 resp. 96 Stunden in Nitrit verwandelt, während in dem Boden vom 18. Dezember, der vermutlich einen höheren Gehalt an organischen und anorganischen Nährstoffen hatte, der gleiche Effekt schon in 48 Stunden erzielt war. Allerdings ist zu bemerken, daß auch die Kontrollvibrionen (Dejektionscholeraabazillen aus Graz) durch sehr häufige

Übertragungen in Nitratbouillon zwischen dem 27. XI., 9. XII. und 28. II. insofern verändert wurden, als sie am 27. XI. alles Nitrat in 9 Tagen, am 9. XII. in 8 Tagen, am 28. II. in 4 Tagen zu Nitrit reduzierten. Diese geringe Änderung vollzog sich aber hier bei sehr häufigen Übertragungen in sehr langen Zeiträumen, während die einmalige Übertragung auf den Boden in der kurzen Zeit von 3 Tagen einen unverhältnismäßig größeren Effekt hatte.

Versuch 2.

Dejektionscholeravibrionen aus Graz hatten am 28. XII. folgende Mengen von salpetriger Säure in 0,5 proz. Nitratbouillon gebildet:

Milligramm NO₂H in 10 ccm Nitratbouillon nach

24	48	72	96	144 Stunden
10,0	20,0	20,0	25,0	27,0

Diese Choleravibrionen wurden nun während 18, 20 und 31 Minuten einer Lösung von NO₂H 1 : 1000 ausgesetzt und dann in 0,5 proz. Nitratbouillon übertragen, in welcher nunmehr folgende Mengen von salpetriger Säure gebildet wurden:

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon

In NO ₂ H 1 : 1000	24	72	96	120	144	168	192 Stunden
18 Minuten . . .	5,0	11,0	18,0	18,0	22,0	22,0	27,0
20 Minuten . . .	3,0	12,0	19,0	19,0	22,0	22,0	27,0
31 Minuten . . .	3,0	10,0	15,0	18,0	23,0	25,0	27,0

Es war somit eine sehr beträchtliche Verlangsamung der Nitritproduktion erzielt worden

Versuch 3.

Die so abgeschwächten Vibrionen wurden auf eine 30 cm hohe mit Nitratbouillon kapillar durchtränkte Bodensäule (Boden vom 18. Dezember) der Fallmeyerstraße übertragen und von dieser nach 3 tägigem Stehen im Brutschrank bei 36° C in 0,5 proz. Nitratbouillon abgeimpft; ebenso wurde von einer gleich lange im Thermostat gestandenen Kontrollbouillonkultur der gleichen abgeschwächten Vibrionen eine Übertragung in Nitratbouillon gemacht. Beide Bouillonproben wurden bei 36° C im Thermostat aufbewahrt und in je 24 Stunden Nitritbestimmungen ausgeführt. Das Resultat war folgendes:

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
Unreiner Boden	15,0	23,0	27,0	—	—
Kontrolle . . .	10,0	15,0	22,0	25,0	27,0

Merkwürdig ist bei diesem Versuch, daß die durch salpetrige Säure 1 : 1000 herbeigeführte Abschwächung der Grazer Dejektionscholera-vibrionen einzig und allein durch zweimalige Übertragung in 0,5 proz. Nitratbouillon ziemlich beträchtlich erhöht wurde; denn unmittelbar nach der Abschwächung reduzierten die Vibrionen die gesamte Nitratmenge in 192 Stunden, während sie nach der im Intervall von 3 Tagen ausgeführten zweimaligen Übertragung in 0,5 proz. Nitratbouillon die gleiche Wirkung schon in 144 Stunden entfalteten. Aber diese Beschleunigung der Nitritproduktion ist doch weit geringer als diejenige, welche durch den unreinen Boden bewirkt wurde.

Versuche mit nichtsterilisiertem, kapillar mit Wasser durchtränktem verunreinigtem Boden, am 18. Dezember in der Fallmeyerstraße 3 entnommen.

Es war nun weiterhin zu untersuchen, ob auch die Übertragung der Cholera-vibrionen auf einen nichtsterilisierten, verunreinigten Boden unter natürlichen Bedingungen, also bei kapillarer Durchtränkung mit Wasser, imstande ist, das Vermehrungsvermögen zu erhöhen und eine Beschleunigung der Nitritproduktion herbeizuführen. Dieser Versuch hat mit Rücksicht auf die Lehre der Abhängigkeit der Cholera-verbreitung von der Bodenbeschaffenheit ein ganz besonderes Interesse.

Versuch 1.

Am 22. Dezember 1911 wurde eine Emmerichsche Bodenröhre mit nichtsterilisiertem, lufttrockenem, verunreinigtem, aus der Fallmeyerstraße 3 am 18. Dezember 1911 entnommenem Boden 45 cm hoch unter tüchtigem Einstampfen gefüllt und mit Wasser kapillar durchtränkt. Um nun die in dieser Bodensäule enthaltenen löslichen, organischen und unorganischen Stoffe an die Bodenoberfläche zu führen, wurde an 4 Tagen je 3 Stunden lang Luft durch ein mit sterilisierter Watte gefülltes Glasrohr in langsamem Strom vermittlems einer Wasserstrahl-luftpumpe über die Bodenoberfläche geleitet. Am 1. Februar 1912 wurde die Bodenoberfläche mit einer sehr schwachen Cholera-vibrionensuspension in physiol. Kochsalzlösung infiziert und die Bodensäule in den Thermostat bei 36° C gestellt. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden Gelatineplatten, Dieudonné-Blutagarplatten und Peptonwasserproben mit dem Boden besät, um die Cholera-bazillen rein zu züchten. Es gelang jedoch nur nach 24 und 48 Stunden Reinkulturen derselben zu erhalten, während die nach 72 Stunden hergestellten Gelatineplatten und Peptonwasserproben so viele Bodensaprophyten enthielten, daß infolge der dichten Lagerung der Kolonien auf den ersteren, eine isolierte Abimpfung der noch reichlich aber in sehr kleinen Kolonien vorhandenen Cholera-vibrionen nicht mehr möglich war. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß stets fremde Kolonien bei der Abimpfung von den nach 72 Stunden hergestellten Platten mit übertragen worden waren und die Cholera-vibrionen gänzlich verdrängt hatten. Letzteres war auch bei dem nach 72 Stunden beimpften Pepton-

wasser der Fall. Demgegenüber war es Professor Emmerich¹⁾ und Gemünd gelungen, von nichtsterilisiertem, verunreinigtem und sehr keimreichem Boden noch nach 9 Tagen Choleravibrionen rein zu züchten; aber der von Emmerich und Gemünd benutzte Boden war mit ungemein viel größeren Mengen von Choleravibrionen infiziert worden als der von mir zum Experiment benutzte. Emmerich und Gemünd hatten die Absicht, die Choleravibrionen reichlich auf den Boden zu bringen, wie sie mit Reiswasserstühlen darauf deponiert werden, während ich nur sehr wenig Vibrionen auf dem Boden aussäte, um bei der voraussichtlichen reichlichen Vermehrung der ausgesäten Keime eine Änderung ihrer Eigenschaften, insbesondere der Nitritproduktion zu erzielen. Das Resultat des Versuches war, wie die folgende Tabelle zeigt, ein sehr günstiges.

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
nach 24 Std. v. Boden rein gezüchtet	10,0	17,0	20,0	25,0	27,0
» 48 » » » » »	19,0	27,0	—	—	—
Kontrolle	5,0	5,0	12,0	14,0	15,0

Die Choleravibrionen, welche nach 24 Stunden vom Boden in Nitratbouillon abgeimpft wurden, zeigten auf der letzteren nach 1 Tag eine schwache, die nach 48 Stunden abgeimpften eine ziemlich starke Hautbildung, während auf der Kontrolle nur ein äußerst zartes Häutchen erst nach 3 Tagen zu bemerken war. Schon in der Kultur der Choleravibrionen, welche nach 24 stündigem Aufenthalt des Bodens bei 36° C aus letzterem rein gezüchtet und in Nitratbouillon übertragen worden waren, war die Nitritproduktion gegenüber der Kontrolle um das Doppelte beschleunigt. In der Kultur der nach 48 stündiger Aufbewahrung des Bodens bei 36° C abgeimpften Choleravibrionen hatte die Nitritbildung eine so erhebliche Beschleunigung erfahren, wie dies Prof. Emmerich bei den zahlreichen von ihm ausgeführten Bodenversuchen selbst bei Bouillondurchtränkung des Bodens niemals in ähnlichem Grade beobachtet hat. Die Gesamtmenge der Nitrate war schon nach 48 Stunden zu Nitrit reduziert. Die Beschleunigung der Nitritbildung war also durch 48 stündige Einwirkung dieses Bodens auf die Vibrionen sogar noch bedeutender als bei allen unseren Versuchen, bei denen der Boden mit 0,5 proz. Nitratbouillon durchtränkt war, einen einzigen derartigen Versuch ausgenommen, bei dem die Vibrionen von mit Nitratbouillon durchtränktem Boden die Gesamtmenge der Nitrate auch schon nach 48 Stunden reduziert hatten. Bei diesem Versuch war aber ein Choleravibrio mit noch guter Nitritbildung verwendet worden, insofern alles Nitrat von der Kontrolle schon in 96 Stunden zu Nitrit reduziert war.

Bei unseren Versuche mit nichtsterilisiertem, mit Wasser durchtränktem Boden wurden dagegen Dejektionscholeravibrionen aus Graz verwendet,

1) Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera indica, experimentell begründet usw. München 1910. Verlag von J. F. Lehmann. S. 345.

welche infolge seltener Übertragung so langsam sehr geringe Mengen von Nitrit bildeten, wie wir es sonst nie beobachtet haben, da in 48 Stunden nur 5 und in 120 Stunden nur 15 mg Nitrit in 0,5 proz. Nitratabouillon erzeugt wurden. Um so beachtenswerter ist, daß die Kultur dieser Vibrionen nach deren zweitägigem Aufenthalt auf dem unter natürlichen Verhältnissen befindlichen Boden die Gesamtmenge der Nitrate in der Nitratabouillon schon innerhalb 48 Stunden zu Nitrit reduzierte. Aus diesem Versuch ergibt sich im Zusammenhalt mit den vorausgehend beschriebenen Experimenten, daß weder die Bouillon noch ein hoher Nitratgehalt des Bodens die Ursache dieser Kräftigung der Vibrionen und Beschleunigung der Nitritproduktion sind, sondern ganz bestimmte anorganische oder organische Substanzen, welche durch die Verunreinigung des Bodens, wahrscheinlich unter Mitwirkung des aufsteigenden kapillaren Flüssigkeitsstroms, in die oberste Bodenschicht gelangen.

V e r s u c h 2.

Der folgende Versuch wurde mit dem gleichen Boden und unter denselben natürlichen Verhältnissen ausgeführt, mit dem einzigen nicht unwesentlichen Unterschied, daß der unreine Boden nicht in lufttrockenem, sondern in natürlich durchfeuchtetem Zustand in die Glasröhre eingestampft wurde. Dies hat den großen Nachteil, daß viele Bodenkapillaren durch das Zusammendrücken des feuchten Bodens zerstört werden, infolgedessen die kapillare Aufwärtsbewegung des Wassers im Boden sehr träge war. Dies war wohl auch der Hauptgrund, aus dem dieser Versuch ein etwas ungünstigeres Resultat ergab. Dasselbe war folgendes:

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5proz. Nitratabouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
nach 24 Std. v. Boden rein gezüchtet.	5,0	15,0	22,0	24,0	27,0
» 48 » » » » »	11,0	15,0	27,0	—	—
Kontrolle	5 0	12,0	16,0	18,0	25,0

**Versuch mit sterilisiertem, stark verunreinigtem Boden aus Thal-
kirchen, nur mit Wasser durchtränkt.**

Dieser Boden wurde aus einem Hause der Plinganserstraße von der mit Pferdemit, Hausabwasser, Hühnerkot usw. stark verunreinigten Hofoberfläche, 6 m von einer Pferdemitgrube entfernt, in dem nassen Jahre 1907, und zwar am 25. November aus 0 bis 5 cm Tiefe entnommen. Beim Auspressen desselben in der hydraulischen Presse von B r i n c k & H ü b n e r in Mannheim erhielt Prof. E m m e r i c h aus ca. 4 l Boden 180 ccm Preßsaft, der wie Blutserum aussah. Trotzdem trat bei der Aussaat von Cholera-vibrionen in diesem keimfrei filtrierte Preßsaft keine Vermehrung, sondern eine langsame Abnahme der Keime ein. Es ergab sich:

Aus einer Öse (= 0,0077 ccm)

sofort nach Einsaat der Cholera-vib. in den Preßsaft	1,028,000	Cholera-Kol.
nach 8 Stunden	882,000	» »
» 24 »	756,000	» »

Generated on 2019-10-03 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/mdp.39015045518175
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In diesem Boden waren somit keine günstigen Entwicklungsbedingungen für die Cholerabazillen, trotz der leicht ersichtlichen Verunreinigung desselben gegeben.

Eine E m m e r i c h s c h e Röhre wird mit diesem sterilisierten verunreinigten Boden 30 cm hoch unter Einstampfen gefüllt, mit Wasser kapillar durchtränkt und auf die Oberfläche einige Tropfen einer physiol. Kochsalzaufschwemmung der Choleravibrionen aus Graz am 21. Dezember 1911 aufgeimpft. Nach 6 tägigem Stehen der Bodensäule im Thermostat bei 36° C werden die Vibrionen vom Boden in 0,5 proz. Nitratbouillon übertragen und gleichzeitig von der seit 6 Tagen neben dem Boden stehenden Bouillonkultur von Cholera ebenfalls in 0,5 proz. Nitratbouillon überimpft. Die Nitritbestimmungen ergaben:

Milligramm NO₂H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	144 Stunden
Steriler unreiner Boden	15,0	20,0	23,0	25,0	27,0
Kontrolle	10,0	20,0	20,0	25,0	27,0

Aus diesem Versuch und aus andern ähnlichen Untersuchungen, welche Prof. Dr. E m m e r i c h ausgeführt hat, scheint hervorzugehen, daß die durch Aufschütten von Mistjauche und andern Abwässern bewirkte Verunreinigung der Bodenoberfläche, namentlich in nassen Zeiten nicht genügt, um auf derselben günstige Entwicklungsbedingungen für die Cholerabazillen zu schaffen. Es muß vielmehr noch eine längere trockene Zeit eintreten, in welcher nicht nur die genügende Quantität, sondern auch die geeignete Qualität von Nährstoffen aus der Tiefe des Bodens der Bodenoberfläche zugeführt werden.

Vorstehende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Dr. R. E m m e r i c h ausgeführt, dem ich für seine Unterstützung wärmstens danke.

GENERAL LIBRARY
NOV 19 1912
UNIV. OF MICH.

ARCHIV FÜR HYGIENE.

BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER

FORTGEFÜHRT VON MAX RUBNER

UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. O. BAIL, Prag; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. R. GRASSBERGER, Wien; Prof. Dr. M. HAHN, Freiburg i. B.; Prof. Dr. L. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. G. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. A. LÖDE, Innsbruck; Prof. Dr. R. O. NEUMANN, Gießen; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. A. SCHATTENFROH, Wien; Priv.-Doz. Dr. P. SCHMIDT, Leipzig; Prof. Dr. M. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. W. WEICHHARDT, Erlangen; Prof. Dr. E. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

M. v. GRUBER, FR. HOFMANN, K. B. LEHMANN, P. UHLENHUTH,

JO. O. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN:

MÜNCHEN

LEIPZIG

WÜRZBURG

STRASSBURG i. E.

SECHSUNDSIEBZIGSTER BAND. 8. Heft.



MÜNCHEN UND BERLIN.

VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1912.

Inhalt.

	Seite
Die Schutzstoffe des Hühnercholera-Immuserums. Von E. Weil. (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag)	343
Über die Beschleunigung der Nitritproduktion in Kulturen von Choleravibrien in Nitratbouillon durch deren vorhergehendes Wachstum auf verunreinigtem Boden. Von Mnoucha Chwilewizky, geb. Kviat. (Aus dem Laboratorium von Prof. R. Emmerich in München)	401
Beilage: Jahresberichte der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalten München, Erlangen und Würzburg für das Jahr 1911.	

NACHDRUCK VERBOTEN.

In den nächsten Heften werden erscheinen:

Über den Einfluß der beruflichen Gliederung des bayerischen Volkes auf die Entwicklung der Sterblichkeit und Fruchtbarkeit der letzten Jahrzehnte. Von A. Groth. (Eingegangen am 2. Juli 1912.)

Manuskripte beliebe man zu senden an Prof. Dr. M. v. Gruber, München, Pettenkofferstr. 34 (mit Ausnahme solcher gewerbehygienischen Inhalts) oder an Prof. Dr. K. B. Lehmann, Würzburg, Hygienisches Institut (solche gewerbehygienischen Inhalts).

Kathreiners Malzkaffee

unschädlich, billig, wohlschmeckend

(1)

Verlag von R. Oldenbourg in München NW. 2 und Berlin W. 10.

Leitfaden für die Abwasserreinigungsfrage

Von Professor Dr. Dunbar,

Direktor des Staatl. Hygienischen Instituts zu Hamburg.

410 Seiten 8°. Mit 150 Abbildungen im Text. In Leinwand gebunden M. 9.—.

Aus der Besprechung der „Deutschen Medizinischen Wochenschrift“:

Der um die Abwasserfrage sehr verdiente Autor, welcher mit seiner Hamburger Versuchs-Klär-anlage bahnbrechend gewirkt hat, legt dem sich für diese Frage interessierenden Publikum ein Buch von hervorragender Bedeutung vor. . . . Das Buch Dunbars bringt eine große Menge des Wissenswerten und sei Ärzten, Technikern und Verwaltungsbeamten auf das Wärmste empfohlen.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

JAHRESBERICHTE

der

Kgl. Bayer. Bakteriologischen Untersuchungsanstalten

in

München, Erlangen und Würzburg

für das 1. Geschäftsjahr

1911



München 1912

Kommissionsverlag von R. Oldenbourg

Durch Kgl. Verordnung vom 31. August 1910 wurden in Verbindung mit den Hygienischen Instituten der drei Landesuniversitäten München, Erlangen und Würzburg bakteriologische Untersuchungsanstalten errichtet. Sie haben die Aufgabe, für öffentliche Behörden und Anstalten sowie für approbierte Ärzte bakteriologische Untersuchungen vorzunehmen und Gutachten hierüber zu erstatten. Die drei Anstalten sind dem Staatsministerium des Innern unmittelbar untergeordnet. Die Anstalt in München ist für die Kreise Oberbayern, Niederbayern und Schwaben und Neuburg, jene in Erlangen für die Kreise Oberpfalz und Regensburg und Mittelfranken, jene in Würzburg für die Kreise Pfalz, Oberfranken und Unterfranken und Aschaffenburg bestimmt. In der Pfalz wird ein großer Teil der bakteriologischen Untersuchungen für öffentliche Behörden und Anstalten und für approbierte Ärzte durch die Bakteriologische Untersuchungsanstalt in Landau, welche schon vor Jahren zum Zwecke der Typhusbekämpfung im linksrheinischen Deutschland errichtet worden ist, besorgt.

Die im Interesse der öffentlichen Gesundheitspflege vorgenommenen Untersuchungen sind gebührenfrei; für die übrigen sind Gebühren zu entrichten, deren Höhe durch die Minist.-Bekanntmachung Nr. 5289 c/22 vom 6. September 1910 festgesetzt ist. Gemeinden und Distriktsgemeinden, welche auf Grund einer Vereinbarung jährlich eine Entschädigung von M. 2 für jedes angefangene Tausend Einwohner im voraus entrichten, haben nur ein Viertel der Gebührensätze zu bezahlen. Öffentliche Kranken- und Pflegeanstalten, die Träger der Arbeiterversicherung, ärztliche Vereine, approbierte Ärzte können sich durch Vorausbezahlung von M. 1 pro Untersuchung auf 25, 50, 75, 100 usw. Untersuchungen gewissermaßen abonnieren. Sie haben dann für die einzelne wirklich ausgeführte Untersuchung nur ein Viertel bzw. die Hälfte der Gebühr zu entrichten. Mit Genehmigung des Staatsministeriums des Innern sind auch Vereinbarungen auf anderer Grundlage zulässig.

Die Art der Entnahme, Verpackung und Versendung der zur Untersuchung bestimmten Stoffe sind durch Minist.-Bekanntmachung Nr. 5289 c/23 vom 6. September 1910 genau vorgeschrieben, geeignete Versandvorrichtungen werden von allen Apotheken bzw. von den Anstalten selbst abgegeben.

Die Anstalten haben am 1. Februar 1911 ihre Tätigkeit begonnen.

Jahresbericht der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.

Von
Dr. med. **W. Rimpau**,
II. Direktor der Anstalt.

Die Kgl. Bakteriologische Untersuchungsanstalt München ist in einem Teil des ersten Stockwerkes der alten Anatomie (Schillerstraße 25) untergebracht; sie umfaßt ein großes Laboratorium mit vier, ein kleineres mit zwei Arbeitsplätzen, ein Vorstandszimmer, ein Bureauzimmer und einen größeren Arbeitsraum (Küche) zum Herrichten der Nährböden, zum Sterilisieren der Glassachen usw. In einem Nebenhaus befinden sich in zwei getrennten Räumen die Vorrattiere und die geimpften Tiere.

Die Einrichtung der Laboratorien ist derart, daß sie vorläufig auch zur Erledigung von Massenuntersuchungen anlässlich von Epidemien ausreicht. Die Anstalt untersteht dem Staatsministerium des Innern und wird geleitet von dem ersten Direktor, dem Vorstand des Hygienischen Institutes der Universität München, Obermedizinalrat Professor Dr. v. Gruber, und dem zweiten Direktor, dem Berichterstatter.

An Arbeitskräften stehen der Anstalt ein Assistent, zwei Präparatorinnen, zwei Diener, eine Schreibhilfe zur Verfügung; außerdem arbeiteten stets zwei bis drei Ärzte zur Ausbildung in der Anstalt. An dieser Stelle sei ehrend des Assistenten der Anstalt, Dr. Hermann Gareis, gedacht, der bei der serologischen Identifizierung eines frisch gezüchteten Typhusstammes sich infizierte und am 1. November 1911 der Infektion erlag.

In der Berichtszeit — vom 1. Februar bis 31. Dezember 1911 — sind 4869 Proben zwecks bakteriologischer Untersuchungen eingegangen, und zwar aus Oberbayern 2922, Niederbayern 276, Schwaben 1671.

Es ist zu berücksichtigen, daß in diesen Zahlen einbegriffen sind die Untersuchungen für die Stadt München, die 1697, und die Massenuntersuchungen, welche im Interesse der Typhus- und Ruhrbekämpfung in den Heil- und Pflegeanstalten ausgeführt wurden und die für Oberbayern 477,

für Schwaben 983 betragen. In der Untersuchungszahl für Oberbayern sind außerdem 351 Untersuchungen einbegriffen, die zwecks Bekämpfung einer Diphtherieepidemie in einem Internat ausgeführt wurden.

Es sind somit Proben für Einzeluntersuchungen zu diagnostischen Zwecken in der Hauptsache anlässlich klinischer Erkrankungen eingesandt worden aus München in 1697, aus Oberbayern ohne München 397, aus Niederbayern 376, aus Schwaben 688 Fällen.

Auf die einzelnen Monate verteilen sich die 4869 Untersuchungen in folgender Weise:

Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September
537	332	257	200	280	344	376	387
	Oktober	November	Dezember				
	716	799	641				

Das Ergebnis der Untersuchung der eingesandten Proben ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Material	Eingesandt für Untersuchung auf	Gesamtzahl	Positiv	Negativ
Stuhl (928)	Typhus-Paratyphus } Gärtner	833	Ty 40 Pa B 31 Gärtner 4	758
	Ruhr		20	
	Diphtherie	1	—	1
	Cholera	16	—	16
	Wurmeier	9	1	8
	Tuberkulose	3	—	3
	Urin (586)	Typhus-Paratyphus } Tuberkulose	510	Ty 6 Pa B 3
Bact. coli		9		23
Bakterien		10	9	1
Gonokokken		10	4	6
		24	—	24
Rachen-Nasensekret (759)	Typhus	1	1	—
	Diphtherie	738	188	550
	Angina Vincenti	8	6	2
	Epid. Genickstarre	12	1	11
Blut für Agglutination (755)	Typhus-Paratyphus } Ruhr	735	Ty 119 Pa B 23	593
	Cholera		3	
		2	—	2
Blut für Kultur	Typhus-Paratyphus } Kokken	197	Ty 21 Pa B 1	175
	Milzbrand		6	
	Actinomyces	1	—	1
		2	—	2
Blutausstrich (13)	Malaria	6	1	5
	Spiroch. pallida	4	—	4
	Streptokokken	3	—	3

Material	Eingesandt für Untersuchung auf	Gesamtzahl	Positiv	Negativ
Blut für Wassermannsche Reaktion (1193)	Lues	1193	415	750 (28 ungeeignet)
Auswurf (374)	Tuberkulose	349	73	276
	Pneumokokken	23	7	16
	Actinomyces	2	1	1
Pleuraexsudat (7)	Tuberkulose	7	3	4
Eiter (20)	Tuberkulose	8	4	4
	Kokken	12	8	4
Spinalflüssigkeit (27)	Genickstarre	14	2	12
	Tuberkulose	5	—	5
	Lues	8	5	3
Genitalsekret (60)	Gonokokken	54	12	42
	Diphtherie	2	—	2
	Spiroch. pallida	4	1	3
Organe (15)	Typhus	10	8	2
	Malaria	1	—	1
	Kokken	2	2	—
	Cholera	1	—	1
	Ruhr	1	—	1

Außerdem: 94 Wasserproben auf Keimgehalt und Krankheitserreger, 8 Ausstriche von Darminhalt auf Cholera, 1 Wäschestück auf Cholera, 12 Staubproben auf Tuberkulose, 1 Wollprobe auf Milzbrand, 2 Prüfungen von Desinfektionsapparaten, 3 Untersuchungen von Wundsekret, 2 von Erdproben auf Tetanus (negativ).

In der Berichtszeit hatten 23 Gemeinden und Distriktsgemeinden 52 Ärzte, ärztliche Vereine, Krankenhäuser die Vereinbarungen nach Abschnitt II der Gebührevorschrift (Min.-Bekanntmachung vom 6. Sept. 1910) abgeschlossen.

Im Verhältnis zur Größe des Anstaltsgebietes — Distriktsgemeinden, ca. 1500 praktische Ärzte und ca. 3 Millionen Einwohner — erscheint die Zahl sowohl der Untersuchungen als auch die Beteiligung der Ärzte und Distriktsgemeinden recht gering. Es ist dabei zu berücksichtigen, daß es sich um eine Arbeitszeit der Anstalt von nur elf Monaten handelt, und daß die Anstalt selbst erst Fühlung mit der Ärzteschaft nehmen mußte. Zu berücksichtigen ist auch, daß die Ärzte selber sich mit den Methoden der Einsendung des Materials vertraut machen müssen, und daß das Publikum sich erst allmählich an den Gedanken der bakteriologischen Untersuchung gewöhnt.

Bezüglich der Untersuchungsmethodik und der Untersuchungsfälle ist folgendes bemerkenswert.

Typhus-Paratyphus-Gruppe.

Agglutination: Die an dem Schottelius-Wattetupfer eingesandten Blutproben wurden abzentrifugiert. Die Sera in der Verdünnung 1:50, 100 ev. 200 und höher wurden mit zwei Typhusstämmen, einem Paratyphus B- und A-Stamm, *Bacillus enteritidis* Gärtner austitriert. Außerdem wurde, wenn genügend Blut — mindestens 40 bis 50 Tropfen — eingesandt, noch die Agglutination mit Flexner-Ruhr geprüft. Verwandt wurden nur lebende Agarkulturen.

Agglutination nach 2 Std. Brutschrank in der Verdünnung 1:50 wurde als „verdächtig“, in der Verdünnung 1:100 als „positiv“ bezeichnet. (Lupe- und mikroskopische Kontrolle.)

Mitagglutination des *Bac. enteritidis* Gärtner wurde bei Typhusinfektion sehr häufig, bei Paratyphusinfektion niemals beobachtet. Bei Beginn der Typhusinfektion war mehrmals die Gärtner-Agglutination positiv, während sie für Typhusbazillen nur verdächtig war. Einige Sera agglutinierten nur einen der beiden Typhusstämme, bei Verwendung nur eines Stammes wäre also eine falsche Diagnose gestellt worden.

Blutkultur. Die abzentrifugierten Blutkörperchen und der Wattetupfer wurden mit steriler Rindergalle überschichtet und 24 Std. bei 37° gehalten und dann einige Ösen auf eine Malachitgrün- und eine Drigalski-Conradiplatte verrieben. In ca. 11% der untersuchten Proben, die von unter Typhusverdacht erkrankten Personen stammten, ließen sich Typhusbazillen, Paratyphus B-Bazillen nachweisen. Bei zwei Fällen war die Blutkultur positiv bei negativer Agglutination. Je mehr Blut eingesandt wurde, um so günstiger waren die Resultate.

Stuhl. Urin. Als Kulturverfahren kam ausschließlich der Drigalski-Conradische Nährboden in Verbindung mit dem Malachitgrünanreicherungsverfahren nach Lentz-Tietz zur Anwendung. Die Kultur aus der Abschwemmung des Malachitgrünnährbodens gab in einer Reihe von Fällen allein ein positives Resultat. Die als verdächtig angesehenen Kolonien wurden in einem Tropfen Immuneserum in der Verdünnung 1:100 auf dem Objektträger verrieben, sodann zwecks Feststellung ihrer Reinheit auf Drigalskiplatten ausgestrichen und von hier aus auf Nährböden zwecks Feststellung ihres kulturellen Verhaltens geimpft. Waren diese Proben einwandfrei, erfolgte die Agglutination mit hochwertigem Kaninchenimmuneserum unter Kontrolle mit Normalserum. Erst wenn das kulturelle und mikroskopische Verhalten und die Agglutination die gefundenen Bazillen als Typhus- bzw. Paratyphus- oder Ruhrbazillen erwies, wurde die Diagnose dem Antragsteller übermittelt.

Als Differentialnährböden wurden Bouillon, Lackmusmolke, Barsiekow I. II, Löffler I. II, Traubenzuckerbouillon, Milch angewandt.

Die Immunesera wurden durch Immunisierung von Kaninchen in der Anstalt gewonnen (Titer zwischen 1:10 000 bis 20 000).

Von den eingesandten Organen — Sektionsmaterial von einer Bazillenträgerin und von Typhuskranken — wurden Kulturen ohne und nach Anreicherung mit steriler Rindergalle angelegt.

In der Leber und der Gallenblase der Bazillenträgerin waren Typhusbazillen sehr zahlreich vorhanden. (Nähere Angaben s. Bernhuber: Typhusbazillenträgerin in einem Institut. Münchner med. W. Nr. 7, 1912.)

Bemerkenswert ist, daß es gelang, in einem wegen Diphtherieverdacht eingesandten Mandelbelag Reinkultur von Typhusbazillen nachzuweisen. Es fiel bei Betrachtung des Neißerpräparates des Originalausstriches auf, daß schmale Bazillen das Bild beherrschten; daraufhin wurde sofort auf Typhus untersucht.

Der Patient hatte einige Tage gefiebert. Der Stuhl enthielt keine Typhusbazillen, die Agglutinationsprobe war fünf Tage nach dem Typhusbazillenbefunde negativ. Nach gütiger Mitteilung des Herrn Dr. Oberreit, Lindau, haben sich bei weiterer Beobachtung keine klinischen Symptome des Typhus ergeben.

Es handelte sich offenbar um einen ambulanten Typhus mit vorübergehender Ansiedelung der Typhusbazillen auf den Mandeln.

Typhusbazillenträger wurden festgestellt in den Heil- und Pflegeanstalten Eglfing, Kaufbeuren, Gabersee, in zwei von diesen auch Paratyphusbazillenträger. Eine systematische Bekämpfung der infektiösen Darmkrankheiten in diesen Anstalten ist in Angriff genommen. Wenn derartige Anstalten schon jahrelang infiziert sind, erfordert es überaus viel Arbeit und Zeit, sie seuchenfrei zu bekommen. Bei Neugründungen von Heil- und Pflegeanstalten sollte schon von vornherein durch bakteriologische Untersuchung vor dem Verlegen der Patienten in die Anstalt und durch weitere bakteriologische Kontrolle jeder Neuaufnahme einer Einschleppung entgegengetreten werden.

Über die Feststellung einer Typhusbazillenträgerin, die seit Jahren die Ursache von Erkrankungen in einem „Typhushause“ war, ist von dem behandelnden Arzt Herrn Dr. Bernhuber¹⁾ an anderer Stelle bereits berichtet worden. Bei Umgebungsuntersuchungen anlässlich einer kleineren Typhusepidemie in H. bei Augsburg wurde eine Bazillenträgerin gefunden, die vor einem Jahre Typhus durchgemacht hatte.

Paratyphusbazillenträger wurden, abgesehen von einigen Fällen in Heil- und Pflegeanstalten, nur zweimal beobachtet. Bei dem einen Fall — in der Umgebung von Typhuserkrankten — handelte es sich offenbar um eine gelegentliche alimentäre Ausscheidung. Der andere Fall war aus zwei Gründen interessant. Es wurde Stuhl eingesandt von einem Kinde, das auf Milchnahrung stets blutigen Stuhl bekam. Dieser Stuhl enthielt, wie zweimal festgestellt wurde, in sehr geringen Mengen Paratyphusbazillen. Entsprechend den von mir früher gemachten Beobachtungen, daß in der Umgebung darmkranker Säuglinge und älterer Kinder verhältnismäßig häufig Darmerkrankungen Erwachsener festgestellt werden, wurden seitens der Kgl. Universitäts-Kinderklinik Ermittlungen in der Familie des Kindes angestellt, die ergaben, daß der Vater des Kindes seit Jahren anfallweise an dünnen Stühlen litt. Der Vater schied Paratyphus B-Bazillen aus. Der zweite Punkt, der hierbei interessant ist, war, daß beide Stämme, vom Vater

1) l. c.

und vom Kinde, als identisch angesehen werden mußten, da sie sich serologisch gleich verhielten. Sie wurden von einem hochwertigen Paratyphus B-Serum (Titer 1: 6000) nur bis 1: 2—3000 agglutiniert.

Die Patienten, bei denen eine Paratyphus B-Infektion nachgewiesen wurde, zeigten teils das klinische Bild des Typhus (hellgelber Stuhl), teils das einer akuten Darmstörung, bisweilen unter stürmischen Erscheinungen der Fleischvergiftung (brauner oder grünlich braungelber, meistens sehr fäkulenter, gasreicher Stuhl mit graulich braunen Schleimbeimengungen), teils Ruhrerscheinungen (schleimig blutiger Stuhl), teils choleraähnliche Erscheinungen (Reiswasserstuhl).

In zwei Ortschaften wurden Paratyphus B-Erkrankungen festgestellt, die unter dem Bilde der Fleischvergiftung verliefen. Die eine Gruppe der Erkrankungen ist im Anschluß an eine Notschlachtung aufgetreten.

Zwei sporadische Infektionen mit *Bacillus enteritidis* Gärtner wurden beobachtet. Der eine Fall aus der Praxis des Herrn Dr. Aicher in Eichendorf, dem ich auch die näheren Angaben verdanke, erkrankte mit starkem galligen Erbrechen, heftigen Diarrhöen mit schleimig braunen, äußerst fäkulenten Stühlen, ohne Fieber, starker Somnolenz. Eine Schwester der Erkrankten litt vorübergehend an Leibschmerzen und Diarrhöen. Eine Ursache ließ sich nicht feststellen. Weitere Erkrankungen sind in der Ortschaft nicht vorgekommen.

Eine zweite sporadische Gärtnerinfektion betraf einen Kollegen, der sich hier in München, offenbar bei einem Abendessen in einem hiesigen Restaurant, infizierte. Im Beginn kolikartige Leibschmerzen, fünf bis sechs flüssige bräunliche Stühle. Nervöse Erscheinungen überwogen — starke Schmerzen im Hinterkopf, besonders beim Sitzen und Stehen, profuse Schweißausbrüche. Anfangs geringes Fieber, dann fieberfrei, Puls normal. Ungefähr zehn Tage dauerten die Störungen des Allgemeinbefindens, hauptsächlich nervöser Natur, an. Die Gärtnerbazillenausscheidung wurde bei Beginn der Erkrankung und bis in die vierte Woche nach der Erkrankung festgestellt.

Diese sporadischen Fälle sind bemerkenswert, da Infektionen mit *Bacillus enteritidis* Gärtner in der Regel nur als Gruppenerkrankungen festgestellt werden.

Ruhr.

Der Nachweis der Ruhrerreger erfolgte entsprechend dem der Typhusbazillen. Die festgestellten Ruhrerreger gehörten sämtlich zu der giftarmen Gruppe, der sog. „Y“-Ruhr; Erreger aus der giftreichen (Shiga-Kruse) oder giftschwachen Ruhrgruppe (Flexner) wurden in keinem Falle nachgewiesen. Eine Reihe von Befunden wurde anläßlich einer „Y“-Ruhrdurchseuchung in einer Heil- und Pflegeanstalt erhoben. In einer anderen Heil- und Pflegeanstalt wurde gelegentlich Umgebungsuntersuchungen auf Typhus eine Person mit „Y“-Ruhrbazillen festgestellt. Die Colibazillen dieser Ruhrinfizierten agglutinierten stark mit Flexnerserum. Die Agglu-

tion hat sich unverändert erhalten, trotzdem der Colistamm bei Zimmer-temperatur dem diffusen Licht jetzt $\frac{3}{4}$ Jahr ausgesetzt aufbewahrt wurde.

Drei Fälle wurden in München festgestellt. Einer war eingeschleppt aus Nürnberg, die anderen, ein Institutszögling und ein drei Jahre altes Kind hatten sich in München infiziert. Diese beiden Fälle kamen in verschiedenen Stadtteilen ziemlich gleichzeitig vor. Zu dieser Zeit bestand, wie mir einige Kollegen sagten, ein Anstieg der Zahl der Darmerkrankungen, unter denen auch solche mit blutigen Stühlen gewesen sein sollen. Es ist die Folge des leichten Verlaufes dieser „Y“-Ruhr, die sich häufig klinisch nur durch leichte, schnell vorübergehende Durchfälle äußert, daß nur ein geringer Teil zur ärztlichen Behandlung kommt und von diesem nur ein ganz geringer Teil ohne bakteriologische Untersuchung als Ruhr erkannt wird. Die obigen drei Fälle hatten typischen blutig-schleimigen Ruhrstuhl. Ein weiterer Fall kam aus Italien, wurde wegen Choleraverdacht interniert, bis er sich durch die bakteriologische Untersuchung als „Y“-Ruhr herausstellte.

Zur Feststellung der Ätiologie einer Familieninfektion nahm Herr Medizinalrat Dr. Max Gruber die Hilfe der Anstalt in Anspruch, ihm verdanke ich auch folgende Ergebnisse seiner sorgfältigen Beobachtungen und Ermittlungen.

Anfang Juli erkrankten nachts zwei Kinder der Familie Z. unter Erbrechen, Leibschmerzen und profusen Durchfällen, Fieber, Benommenheit. Die Stühle waren aashaft stinkend, von graugrüner Farbe, teilweise mit blutigen Beimischungen. Am folgenden Morgen waren die Kinder bewußtlos, zyanotisch mit tetanischen Krämpfen, ununterbrochen Stühle entleerend, die dünnflüssig, schleimig-blutig waren. Ein gleichzeitig erkranktes Kind zeigte leichtere Erscheinungen. Am folgenden Tage erkrankte die Mutter unter dem Bilde einer schweren Erkrankung, mit plötzlichem Erbrechen, Durchfall, Kopfschmerz und Kräfteverfall. Am Nachmittage dieses Tages konsultierte ein anderer Sohn wegen Leibschmerz und leichtem Durchfall einen Arzt. Auf dem Wege von diesem brach er zusammen, war abends verwirrt, entkräftet und produzierte wässrige schleimig-blutige Stühle. T. 39. 2.

Die Erscheinungen ließen dann nach einigen Tagen nach, doch waren die Patienten noch längere Zeit entkräftet, blutarm und zeigten beschleunigte Herzstätigkeit und Pulsfrequenz.

Ätiologisch wichtig ist, daß ein Kind bereits vor der ersten Erkrankung magendarmkrank gewesen ist.

Die Ursache (Nahrungsmittel?) hat sich nicht aufklären lassen.

Aus den Stühlen der Patienten wurden unbewegliche Bazillen gezüchtet, die sich kulturell wie „Y“-Ruhr verhielten. Diese wurden von den Seris der Patienten teilweise bis i. d. V. $\frac{1}{400}$ agglutiniert. Mit sechs normalen Menschenseris geprüft, agglutinierten sie nicht. Die gleichen Stämme wurden auch von Herrn Dr. Georg Gruber im Krankenhaus r. d. I. aus den Stühlen gezüchtet. Sämtliche Stämme agglutinierten mit den Ruhrseren (Flexner, Shija-Kruse, „Y“-Ruhr) nicht. Der Stamm war äußerst pathogen für Meer-schweinchen: $\frac{1}{2}$ Öse tötete nach 8 Stunden.

Weitere Untersuchungen haben nicht angestellt werden können, da die Stämme ihr typisches Wachstum verloren, statt in der anfänglichen runden Kolonieforn in zackigen, großen flachen Kolonien auf dem Drigalski-Conradinährboden wuchsen und schon nach mehrmaligem Überimpfen spontan agglutinierten.

Daß die gefundenen Stämme die Ursache der Erkrankung sind, ist durch den positiven Ausfall der Agglutinationsreaktion erwiesen.

Diese Beobachtung ist wichtig, da hier ein Erreger aus der Ruhrgruppe klinische Erscheinungen hervorgerufen hat, wie sie sonst nur durch die Erreger der Fleischvergiftungsgruppe (Paratyphus) beobachtet sind, und zweitens, da hier der Erreger serologisch sich von den sonst vorkommenden Vertretern der Ruhrgruppe unterschied.

Cholera.

Die Ausbreitung der Cholera in Italien während der Berichtszeit war die Ursache, daß zwölf unter verdächtigen Erscheinungen krankheitsverdächtig und eine Reihe von gesunden Personen, die in Italien gewesen und teilweise dort Darmstörungen gehabt hatten, als ansteckungsverdächtig im Sinne des R. S. G. untersucht wurden. Die Cholerauntersuchung wurde entsprechend den Vorschriften des R. S. G. und unter Heranziehung des Dieudonné-Blutalkalinährbodens ausgeführt. Jede Probe wurde auch auf Typhus-Paratyphus-Ruhr untersucht. In keinem Falle ließen sich Choleravibrionen nachweisen; in einem Falle wurden aus den übersandten, beschmutzten Wäschestücken allerdings Vibrionen gezüchtet, die aber mit Bestimmtheit als Nichtcholeravibrionen erkannt wurden.

Von den zwölf Krankheitsfällen wurden fünf als Paratyphus B-Infektion, einer als Ruhrinfektion (Y) bakteriologisch erwiesen. Zwei Fälle stammten aus Augsburg und sind deshalb bemerkenswert, weil sie klinisch völlig unter dem Bilde der Cholera asiatica verliefen. Der lebenswürdigen Mitteilung von Herrn Oberarzt Dr. Müller, Augsburg, verdanke ich die näheren Mitteilungen, auch über einen dritten Fall, der gleichzeitig erkrankte und starb, bei dem die bakteriologische Untersuchung in Augsburg Paratyphus feststellte.

Fall I. D.

Erkrankung 25. Mai. Erbrechen, Leibschmerzen, weißgrauer, wässriger Stuhl mit Schleimhautfetzen durchsetzt, alle $\frac{1}{2}$ Stunde entleert. Krämpfe in den Zehen. Milz, Leber palpabel. Stuhl Paratyphus B-Bazillen. Agglutination positiv für Paratyphus B. Rekonvaleszenz 30. Mai.

Fall II. St.

Plötzliche Erkrankung mit unstillbarem Erbrechen, Reiswasserstühlen und tiefliegenden Augen, Graufärbung des Gesichts. Kein Fieber. Stuhl: Paratyphusbazillen.

Fall III. N.

Am 19. Mai plötzliches starkes Erbrechen mit flüssigem gelbbraunem Stuhl mit Schleimhautfetzen, 6—7 mal pro die. Milz nicht palpabel. Sen-

2*

sorium getrübt. Am 21. Mai schlechter Puls, Wadenkrämpfe, Fußsohlenschmerz, fünf Stühle. 22. Mai aschgraues Gesicht, Zyanose der Extremitäten, Somnolent, nachts Exitus.

Sektion: Magenschleimhaut gerötet, mit punktförmigen Blutungen durchsetzt. Follikulärapparat des Dejunio-Ileums stark hypertrophisch. Darm-schleimhaut des Dünndarms teilweise defekt, in den Follikeln teilweise kleine Geschwüre. Inhalt des Darmes flockig, trüb, reiswasserähnlich. Die Ursache dieser Erkrankungen und einiger gleichzeitig aber bedeutend leichter verlaufender Darmerkrankungen hat sich nicht feststellen lassen.

Die drei übrigen wegen Choleraverdacht eingesandten Stühle, die Pa. B. enthielten, waren grünbraun und enthielten zahlreiche Schleimhaut-fetzen, entsprachen aber nicht dem Aussehen der Cholera Stühle.

Die klinischen Erscheinungen hatten den Verdacht nahegelegt.

In einem eigentümlich glasig-schleimigen Stuhl ließen sich mikro-skopisch massenhaft überaus feine Spirillen und Spirochaeten, die in dichte-m Knäuel zusammengelagert waren, nachweisen. Ein ähnliches Bild zeigte der Ausstrich eines anderen wegen Choleraverdacht eingesandten Stuhles. Da hier aber Paratyphus B-Bazillen gezüchtet wurden, mußte die Annahme, daß die Spirillen und Spirochaeten mit der Erkrankung in ursächlichem Zusammenhang ständen, fallen gelassen werden.

Der Nachweis von „Y“-Ruhrbazillen in einem Falle entsprach dem Aussehen des Stuhles (blutig-schleimig).

Bei vier choleraverdächtigen Fällen ließen sich keine Krankheitserreger nachweisen.

Die Einsendung von obigen Fällen zeigt, daß die Maßnahmen der Sanitätspolizeibehörden, choleraverdächtige Fälle zu melden, erfolgreich waren, und daß alles auf der Wacht war. Auch das Publikum selber schien teilweise Anteil zu nehmen. Darauf deuten mehrere Untersuchungsanträge hin, die von aus Italien gesund heimkehrenden Personen gestellt wurden, teils zur eigenen, teils zur Beruhigung ihrer Angehörigen oder ihres Stamm-tisches.

Es betraf Personen aus München, und war hier der Einfluß der Bekannt-machungen des Polizeipräsidiiums zu merken.

Diphtherie.

Von den 738 eingesandten Proben entfallen 350 auf Umgebungsunter-suchungen in einem Internat, 217 auf Untersuchungen aus München, so daß 170 auf den übrigen Anstaltsbezirk fallen. Berücksichtigt man, daß die Diphtherie recht verbreitet war während der Berichtszeit, so ergibt sich, daß von der Heranziehung der bakteriologischen Untersuchung zur Fest-stellung der bakteriologischen Genesung und zu Umgebungsuntersuchungen leider nur wenig Gebrauch gemacht worden ist.

Die positive Diagnose auf Grund des mikroskopischen Bildes des Aus-triches wurde nur in sehr wenigen Fällen abgegeben. Es wurde fast stets das 16—24 stündige Kulturergebnis des Ausstriches auf Löffler-serum abge-wartet. Deutliche Weißerfärbung war die Bedingung der Diagnose, gelegent-

lich wurde auch die Virulenzprüfung angestellt. Bazillenträger mit monatelanger Persistenz der Diphtheriebazillen wurden mehrfach beobachtet; besonders hartnäckig erwies sich die Ansiedelung der Diphtheriebazillen im hinteren Nasenraum.

Tuberkulose.

Zum Nachweis der Tuberkelbazillen im Auswurf wurde in jedem Falle auch das Antiforminanreicherungsverfahren von U h l e n h u t h herangezogen; von den 73 positiven Befunden waren 6—8% nur mittels dieses Verfahrens nachgewiesen.

Von den 32 Urinen, die zur Untersuchung auf Tuberkulose eingesandt waren, wurde bei 25 der Tierversuch angesetzt. Neun waren positiv. Wenn der Urin sich bakteriell stark verunreinigt erwies, wurde das Zentrifugat mit Antiformin vorbehandelt. In einem Falle versagte der Tierversuch, wo die Operation Tuberkulose der Niere des Patienten ergeben hatte. Der Vorbehandlung des Zentrifugats mit 10% Antiformin wird die Schuld an dem Versagen des Tierversuches nicht zuzuschreiben sein, da 50% Antiformin die Tuberkelbazillen nicht zu schädigen vermögen. Wahrscheinlich hat der in geringer Menge übersandte Urin keine Tuberkelbazillen enthalten. Die Einsendung einer größeren Menge von Urin — ca. 3—4 „G“-Gefäße — erscheint daher nötig, da die Tuberkelbazillen bisweilen sehr spärlich vorhanden sein können. Da unter Umständen wohl auch nicht jede Urinportion Tuberkelbazillen enthält, wird es zweckmäßig sein, die Untersuchung an verschiedenen Tagen wiederholen zu lassen.

Fast sämtliche geimpfte Tiere wurden nach dem Blochschen Verfahren behandelt, ein Teil auch in den Oberschenkel gespritzt. Das Interesse der Chirurgen geht dahin, möglichst schnell die Diagnose zu haben, vom bakteriologischen Standpunkt muß absolut einwandfreier Nachweis, daß es sich um Tuberkelbazillen handelt, gefordert werden. Ganz vereinzelt säurefeste Stäbchen in der Drüse eines nach B l o c h behandelten Meerschweinchens kann, da es sich auch um Smegmabazillen handeln kann, m. E. nicht zur Unterlage für eine so schwerwiegende Diagnose dienen.

Syphilis.

Einen besonders großen Teil der Anstaltstätigkeit nahmen die Untersuchungen auf die Wassermannsche Reaktion ein. Von den 1201 Einsendungen (Blut und Spinalflüssigkeit) waren 886 aus München. Die Untersuchungen werden Dienstag und Freitag ausgeführt, die Höchstzahl an einem Untersuchungstage betrug 35. Zur Anwendung kommen alkoholische Luesleberextrakte und ein Ochsenherzextrakt. Die Ausführung erfolgt nach den Wassermannschen Vorschriften. Das hämolytische Serum wird in der Anstalt hergestellt. Vor jeder Untersuchung wird das hämolytische wie das Normal-Meerschweinenserum genau austitriert. Die Extrakte sind in der Anstalt hergestellt, außerdem wird ein Luesleberextrakt der Sächsischen Serumwerke benutzt. Jede Blutprobe wird mindestens mit drei Extrakten geprüft. Vorbedingung ist natürlich, daß genug Blut eingesandt wird. Das Versandtgefäß „R“ muß gut gefüllt sein.

Die Diagnose wird bei kompletter Hemmung als positiv, bei kompletter Lösung als negativ, bei unkompletter Hemmung als schwach positiv bezeichnet; falls der Ausfall der Reaktion bei den angewandten Extrakten verschieden ist, als zweifelhaft. Sera, die schon an sich geringe Hemmung zeigten, wurden als unbrauchbar bezeichnet. Unter den eingesandten waren 84 zweifelhafte und unbrauchbare Sera.

Nur unter sorgsamsten Kautelen und Kontrollen lassen sich Fehldiagnosen vermeiden.

In eingesandten Ausstrichen von Reizserum ließ sich einmal *Spirochaeta pallida* nachweisen.

Auf einen Punkt soll an dieser Stelle besonders eingegangen werden. Die Heranziehung der bakteriologischen Untersuchung für die klinische Diagnose. Hier ist vor zwei Extremen zu warnen, vor der Überschätzung und vor der Geringschätzung der bakteriologischen Untersuchung als Hilfsmittel zur Diagnosestellung. Überschätzung in dem Sinne, daß nun auf eine negative Untersuchung hin die gestellte klinische Diagnose oder bei Verdachtsfällen der Verdacht fallen gelassen wird, Geringschätzung, daß die bakteriologische Untersuchung überhaupt als wertlos beiseite gelassen wird. Das eine ist so falsch wie das andere. Im ersteren Falle ist zu berücksichtigen, daß in dem übersandten Material nicht stets in nachweisbarer Menge die Erreger vorhanden zu sein brauchen. Nicht jeder Stuhl des Typhuskranken enthält in nachweisbarer Menge Typhusbazillen, nicht immer sind in der Zerebrospinalflüssigkeit Genickstarrekranker Meningokokken vorhanden. Sehr häufig liegt der negative Ausfall der Untersuchung auch daran, daß die Entnahme nicht einwandfrei war, ungenügendes Abwischen der Mandeln bei Diphtheriekranken, Einsendung von Mundspeichel statt Lungenauswurf bei Verdacht auf Tuberkulose machen eine bakteriologische Untersuchung ergebnislos und wertlos.

Die bakteriologische Untersuchung ist für den praktischen Arzt ein Hilfsmittel zur Stellung der Diagnose. Und ebenso wie andere Hilfsmittel, z. B. die chemische Untersuchung des Harnes oder die Auskultation, stets mehrmals herangezogen werden, wenn eine einmalige Untersuchung ein negatives Resultat gehabt hat, so hat dies auch mit der bakteriologischen Untersuchung zu geschehen. Und unterschätzen soll der praktische Arzt die Heranziehung der bakteriologischen Untersuchung aus dem Grunde nicht, da sie oft die einzige Möglichkeit bietet, die Diagnose zu stellen: im Beginn der Infektionskrankheit, wo die klinischen Symptome meistens unklar sind oder bei klinisch leicht und atypisch verlaufenden Infektionen; und das ist gegenüber den typischen die weitaus größte Mehrzahl. Gewiß ist es für den Patienten, dessen Infektion leicht und atypisch verläuft, bei symptomatischer Behandlung von wenig Wert, unter welcher Diagnose er behandelt wird. Wenn man aber berücksichtigt, wie nicht selten im Anschluß an derartig leicht und atypisch verlaufende Fälle, schwere Erkrankungen mit Todesfällen sich durch Ansteckung anschließen können, so erkennt man, wie verantwortungsvoll es dem Patienten und seiner Umgebung gegenüber ist, die bakteriologische Untersuchung als Hilfsmittel nicht heranzuziehen.

Jahresbericht der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungs- anstalt Erlangen.

Von
Professor Dr. **W. Weichardt**,
II. Direktor der Anstalt.

Die Seuchenbekämpfung ist bekanntlich darauf gegründet, daß die Infektionserreger aufgesucht, rechtzeitig erkannt und nach Möglichkeit vernichtet werden. Daß der einzelne Arzt hierbei machtlos ist, wurde schon seit langem erkannt. Daher entsprach die Errichtung bakteriologischer Untersuchungsanstalten, welche die Ärzte im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten unterstützen sollen, einem dringenden Bedürfnis.

Ganz besonders interessant ist es, die Aufnahme dieser segensreichen Einrichtungen seitens der Ärzte zu verfolgen in Gegenden, wo solche noch nicht vorhanden waren, wie z. B. in Mittelfranken und der Oberpfalz. Hier konnte man ähnliche Verhältnisse beobachten, wie sie bekanntlich für den Verkehr gelten: Wo gute Einrichtungen geschaffen werden, steigt deren Inanspruchnahme in der Regel rasch. Auch bei uns traf das zu. Während in den ersten Monaten nach Eröffnung unserer Anstalt die Zahl der untersuchten Proben eine recht geringe war — im Monat Februar sechs, im März acht Untersuchungen —, stieg sie dann relativ rasch, so daß in den späteren Monaten die Zahl 100 der durchschnittlichen Untersuchungen überschritten wurde und die Frequenz nunmehr im zweiten Jahre auf mehrere Tausend sich beziffern wird.

Die Kgl. Bakteriologische Untersuchungsanstalt zu Erlangen begann ihre Tätigkeit in den Räumen des hygienisch-bakteriologischen Instituts der Universität. Sie bezog am 17. Juni 1912 das neu hergerichtete Institut, Schloßgarten 2. Die Räume der Anstalt bestehen aus einem großen Laboratorium mit sechs Arbeitsplätzen, einem kleinen Laboratorium des zweiten Direktors, einem kleinen Bureauzimmer und einem Schreibzimmer des Direktors, ferner aus zwei kleinen Räumen für Apparate und Vorräte und endlich aus einem großen Raum zum Herrichten der Nährböden und zum

Viele Ärzte haben die mit der Untersuchungsanstalt geknüpften Beziehungen fortgesetzt. Sie bedienen sich zumeist mit Vorteil des Telephons, das auch seitens der Untersuchungsanstalt stets zur möglichst raschen Übermittlung der eben gestellten Diagnose benutzt wird.

Ein Beispiel dieses gegenseitig so fördernden Verkehrs sei hier angeführt: Es waren bei einigen Ärzten infolge der intensiven Forschung, welche auf dem Anaphylaxiegebiete eingesetzt hat, Zweifel aufgestiegen, ob sie auch, trotz sicherer Diphtheriediagnose, die ihnen vom Institute telephonisch mitgeteilt wurde, zur Injektion von Diphtherieheilserum schreiten dürften, da doch anaphylaktische Zufälle hiernach leicht eintreten könnten. Diese Ärzte wurden stets darauf hingewiesen, daß es sich doch bei den neueren zahlreichen theoretischen Arbeiten, wo anaphylaktische Anfälle beschrieben werden, um Tierversuche handelt. Hierbei werden aber kleinen Tieren, meist Meerschweinchen, relativ große Mengen Serums direkt in die Venen injiziert. Beim Menschen, dem eine relativ geringe Menge des Heilserums subkutan einverleibt wird, seien dagegen schwerere anaphylaktische Erscheinungen außerordentlich selten. Daraufhin wurden die Injektionen dann anstandslos und ohne Nachteil ausgeführt.

Was die bakteriologisch so wichtigen Diphtheriediagnosen anbetrifft, so war es möglich, den vorläufigen telephonischen Bericht über positive Befunde den Ärzten in vielen Fällen schon nach 6 Stunden zu übermitteln, falls das Material noch zeitig genug am Tage einlief.

Besonders wichtig war die Mithilfe der Ärzte gerade bei der Bekämpfung der in manchen Bezirken nicht unerheblichen Diphtherieanbahnung. Hier gaben Nachuntersuchungen scheinbar bereits Gesunder oder von Personen aus der Umgebung der Kranken den Schlüssel zum Verständnis der Weiterverbreitung der Diphtherie. Durch einen Arzt, Dr. St., wäre zweifellos eine Weiterverbreitung der Seuche erfolgt, wenn nicht rechtzeitig das Vorhandensein von Diphtheriebazillen bei ihm seitens der Untersuchungsanstalt schnell nachgewiesen worden wäre.

Ganz besondere Aufmerksamkeit konnte infolge der rein wissenschaftlichen Mitarbeit zahlreicher Ärzte auf gewisse Kokkenträger verwendet werden.

Es sind in der Untersuchungsanstalt bereits eine Reihe von Personen bekannt, die häufig an lokalen Entzündungs- oder Eiterungsprozessen leiden oder an pneumonischen und influenzaartigen Erscheinungen erkranken. Bei manchen dieser Personen ließen sich hin und wieder Pneumokokken im Nasensekret nachweisen. Von allen diesen Dauerträgern wurden Listen angelegt, in denen die Zahl der positiven und negativen Befunde, sowie sonstige epidemiologische Beobachtungen fortlaufend eingetragen werden. Wir hoffen somit im Laufe der Jahre einen Einblick zu gewinnen in die noch wenig untersuchte und geklärte Kokkenträgerfrage und deren Gefährlichkeit; zweifellos beherbergen bestimmte Personen der Bevölkerung auch besonders gefährliche Diplokokken- und Streptokokkenstämme dauernd. Daß solche Individuen, wie die Dauerträger überhaupt, selbst in einer gewissen steten Gefahr schweben, trat bei uns in einem Falle ganz

besonders hervor. Hier wurde nur durch die Untersuchung der bakteriologischen Anstalt die richtige Diagnose gestellt, während weder der klinische Befund noch auch das Sektionsresultat eine sichere Diagnose zuließ.

Es handelte sich um einen 56 jährigen Mann, Paul L., der nach der Anamnese im Juni 1901 einen Anfall von Perityphlitis überstand, im März 1909 an Rheumatismus, im Juni 1910 an Gallensteinkolik, mit geringer Fiebersteigerung, gelitten hatte.

Am 3. März 1911 erkrankte er unter Übelkeit und Appetitlosigkeit; am 5. März suchte er ärztliche Hilfe auf. Es hatte sich nach und nach das Bild einer schweren Gastroenteritis entwickelt, welche sich am nächsten Tage noch verstärkte, sich aber dann besserte, so daß am 11. März ein weicher, gut geformter Stuhl entleert wurde. Patient war immerhin noch leicht soporös und konnte sich nicht recht erholen. Während bisher hohes Fieber gefehlt hatte, entwickelte sich am 13. März ungemein rasch unter Einsetzen hoher Temperaturen das ausgesprochene Bild der Sepsis; bereits nach 7 Stunden erfolgte der Tod infolge Herzlähmung.

Die klinische Diagnose lautete auf Brechdurchfall mit Herzlähmung.

Bei der Sektion zeigte sich folgendes Bild: Hydroperikard; schwaches, stark dilatiertes Herz; perisplenitische Verwachsungen; leicht septische und etwas geschwollene Milz. Trübe Schwellung der Leber. Cholelithiasis mit pericholezystitischen Verwachsungen. Leichte Hyperämie des Peritoneums, entzündliche Hyperämie und Schwellung der Mesenterialdrüsen, leichter Dickdarmkatarrh. Alte Appendizitis; Verwachsung des distal obliterierten Processus vermiformis zwischen Promontorium und Flexura sigmoidea. Im ganzen Becken alte peritonitische Verwachsungen.

Die Blutuntersuchung am 13. März hatte die Anwesenheit von Streptokokken ergeben; am 14. März fanden sich in Blut, Galle, Stuhl und Lymphdrüsen ebenfalls Streptokokken.

Da derartige septische Todesfälle bei Gallenleidenden öfter zur Beobachtung kommen, so ist eine bakteriologische Untersuchung für sichere Aufklärung unerlässlich. Sollten sich dann weitere derartige Fälle feststellen lassen, so müßte man wohl für die Praxis anraten, mehr als bisher bei Gallenleiden auf Entfernung der Gallenblase zu dringen.

Der Typhusnachweis, welcher auf Grund des Kochschen großzügigen Planes der Typhusbekämpfung im letzten Jahrzehnt von so vielen Untersuchern außerordentlich verfeinert worden ist, verhalf auch uns in dem verflommenen Betriebsjahre zu mannigfachen interessanten Einblicken in die Epidemiologie der typhösen Erkrankungen.

Bekanntlich wird von vereinzelt Praktikern die Gefahr der Verbreitung des Typhus durch Wasser immer noch unterschätzt. Es herrschen als Ausfluß früherer Lehren Ansichten über die Verbreitung der Typhusseuche, die den neuzeitlichen Forschungen nicht mehr entsprechen.

Es ist deshalb der sichere Nachweis von Typhuserregern in verdächtigen Wassern, wie er hier und da ausgeführt worden ist, recht wünschenswert. Leider stößt diese Ausführung auf mannigfache Hindernisse; ja es ist geradezu eine Seltenheit, wenn Typhusbazillen im Wasser einwandfrei

nachgewiesen werden. In der Literatur sind nur einige wenige sichere Fälle beschrieben:

Im Jahre 1907 fand W. Gaethgens in zwei Fällen im Wasser Paratyphus B-Bazillen¹⁾. Der erste Fall betraf das Wasser eines Baches, das nach einer Filtration zur Mitversorgung der unzureichenden Wasserleitung benutzt wurde. Da der Bach durch ein Dorf floß, so stammten die Paratyphusbazillen jedenfalls von den Abfällen, die dort direkt ins Wasser gelangen konnten.

Im zweiten Fall wurden im Wasser eines Pumpbrunnens bei der ersten Probe (1 ccm 5640 Keime) keine verdächtigen, nach 10 Minuten langem Abpumpen (1 ccm 270 Keime) Paratyphus B-Bazillen gefunden. Spätere Untersuchungen ergaben stets Vertreter der Alkaligenesgruppe, die vielleicht die Paratyphusbazillen überwuchert hatten.

Ferner gelang es Conradi im Jahre 1907 gleichzeitig Paratyphus- und Typhusbazillen im Wasser eines Springbrunnens nachzuweisen²⁾.

Dann beschrieb Gärtner³⁾ drei Fälle von Typhusepidemien, die alle auf infiziertes Wasser zurückzuführen waren. In den ersten beiden Fällen war die mangelhafte Beschaffenheit der Leitungsrohre die Ursache, im dritten Falle die Durchlässigkeit des Bodens, wie die nach starkem Regen stets erhöhte Keimzahl der Quelle und das Vorhandensein vorher nicht nachweisbarer Kolibazillen bewies.

Auch uns glückte es im vergangenen Jahre, im Wasser eines Schöpfbrunnens Typhusbazillen nachzuweisen. Der großen Seltenheit solcher Befunde wegen sei der Fall etwas ausführlicher beschrieben.

Am 9. Juli 1911 wurden im Stuhle des Kindes W. Sch. aus Neuseß, Bez.-Amt Feuchtwangen, Typhusbazillen nachgewiesen. Da der Verdacht bestand, daß es sich um eine Trinkwasserinfektion handle, wurden am 13. Juli eine größere Anzahl mit dem verdächtigen Wasser gefüllter Flaschen an die Untersuchungsanstalt geschickt. Wichtig für die Beurteilung ist, daß um diese Jahreszeit die außergewöhnlich große Hitze sehr lange anhielt.

Der Inhalt der Flaschen wurde in großen sterilen Schalen im Faust-Heimschen Apparate bei einer Temperatur, die 35° nicht überstieg, bis auf 10 ccm, diese dann in kleineren Schalen bis auf 1 ccm eingedunstet; dieser Rest wurde auf Malachitgrün und Endoplatten ausgestrichen. Die Platten waren relativ reichlich mit verdächtigen Kolonien bewachsen, die sich bei der mikroskopischen und dann auch bei der makroskopischen Agglutination und durch ihr sonstiges Verhalten als Typhusbazillen erwiesen. Besonders bemerkenswert an diesem Befunde ist, daß die Gewinnung des verdächtigen Wasserrestes durch einfaches Eindunsten im Faust-Heimschen Apparate

1) Über das Vorkommen von Paratyphusbazillen (Typhus B) im Wasser. Arbeiten am Kais. Gesundheitsamt Bd. 30, S. 610.

2) Ein gleichzeitiger Befund von Typhus- und Paratyphusbazillen im Wasser. Klinisches Jahrbuch 1907, Bd. 17, S. 351.

3) Über Infektion mit Typhus durch Quellen. Zentralblatt für Bakteriologie I. Abt., Originale Bd. 64, S. 214.

und nicht nach einer der umständlicheren und sicher weniger schonenden Fällungsmethoden bewerkstelligt wurde.

Nachdem einwandfrei aus dem Wasser Typhusbazillen gezüchtet waren, wurde der Brunnen sofort gesperrt, wonach weitere Typhusfälle in der Familie nicht mehr vorkamen.

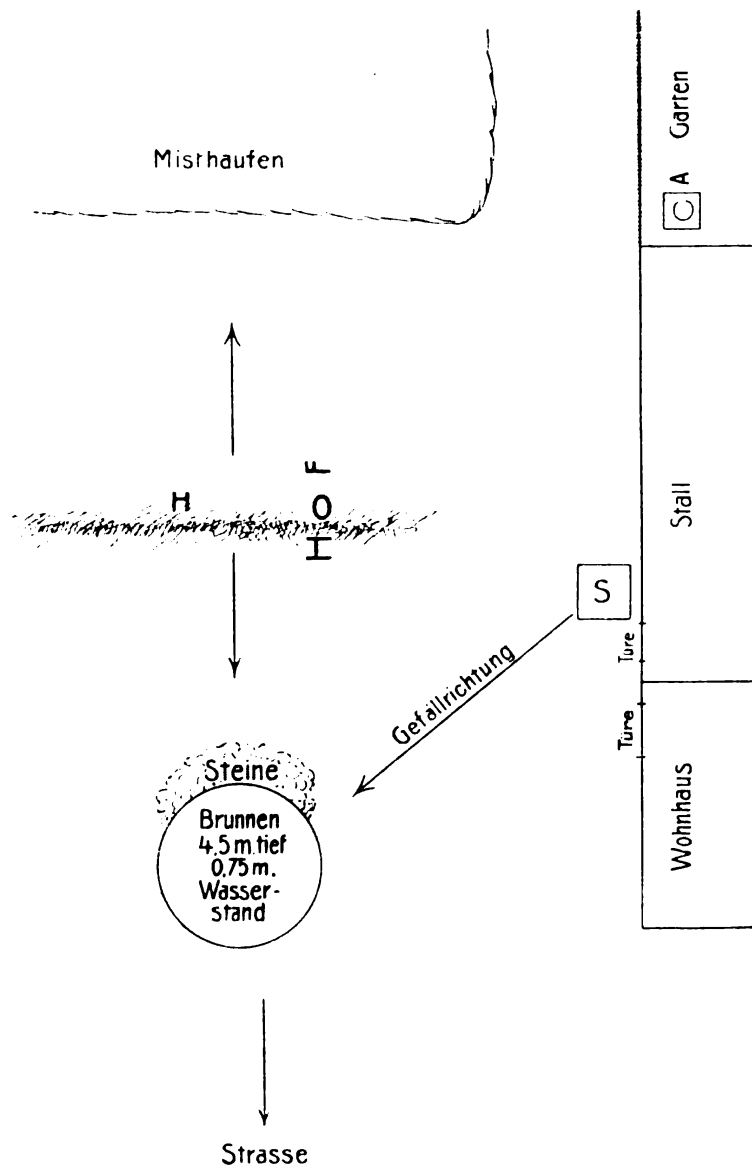
Am 12. August wurde an Ort und Stelle eine Untersuchung des Brunnens vorgenommen. Es ergab sich folgende Situation:

Der Brunnen, ein einfacher Schachtbrunnen, lag ca. 3 m von der Straße entfernt und ca. $1\frac{1}{2}$ m höher als diese. Über den Brunnen, dessen Einfassung nur wenige Zentimeter über den Erdboden reichte, war ein spitzes Holzdach gedeckt, mit der Türe nach dem Hof zu; zwischen den einzelnen Brettern der nach der Straße gelegenen Seite des Holzdaches waren Zwischenräume von mindestens $\frac{1}{2}$ —1 cm. Die Tiefe des Brunnens betrug 4,5 m, der Wasserstand 0,75 m und die Temperatur bei vielen Messungen während der Hitzeperiode des vergangenen Jahres ständig $12,5^{\circ}$ C. Vor der Hofseite des Brunnens waren Steine, zwischen denen ausgeschüttetes Wasser sofort versickerte, um in ca. $1\frac{1}{2}$ m Entfernung vom Erdboden in den Brunnenschacht wieder einzutreten, wie die von dieser Stelle ab bis zum Wasserspiegel sich erstreckenden feuchten Steine bewiesen.

Vom zusammenhängenden Wohn- und Stallgebäude war der Brunnen 3 m, vom Misthaufen, der sich am anderen Ende des Hofes befand, ca. 6 m entfernt. Die Türen des Wohngebäudes und des Stalles lagen dicht nebeneinander; unmittelbar neben der Stalltür lag die auszementierte Senkgrube S, von der aus die Gefällrichtung direkt nach dem Brunnen lief. Zwischen Misthaufen und Brunnen, ungefähr in der Mitte, erstreckte sich eine kleine Bodenerhebung, die nach dem Brunnen und dem Misthaufen hin abfiel. Der Abort A lag abseits hinter dem Stallgebäude im Garten.

Da es demnach unter besonders günstigen Umständen doch gelingen kann, lebende Typhusbazillen im Wasser nachzuweisen, so ist es nicht statthaft, die Einsendung von derartigem Wasser an die Untersuchungsanstalten für ganz zwecklos zu erklären; immerhin ist, wie bereits auseinandergesetzt, die Möglichkeit, lebende Bazillen nachzuweisen in diesen Fällen nur äußerst gering. Es wäre deshalb verfehlt, aus der Nachricht der Untersuchungsanstalt, daß lebende Typhusbazillen nicht in dem betreffenden Wasser gefunden worden sind, seitens des Einsenders den Schluß zu ziehen, daß das Wasser in ursächlichem Zusammenhange mit den beobachteten Fällen nicht stehen könne.

Überhaupt haben wir bereits in diesem ersten Berichtsjahre die Erfahrung gemacht, daß der Befund einer einzigen eingesandten Probe bisweilen zu vorschnell zu Schlußfolgerungen verwertet wird. So ist es z. B. vorgekommen, daß gelegentlich eines Paratyphusfalles ein einziges Mal Stuhl des betreffenden Patienten eingesandt wurde; man konnte in der Anstalt lebende Paratyphusbazillen daraus nicht züchten. Es wurden hiernach vom Einsender Schlüsse gezogen, die sicherlich nicht richtig sind. Vielmehr hätte eine zwei- bis dreimalige Einsendung von Material bei Fortbestehen der klinischen Erscheinungen uns zweifellos in die Lage gesetzt, die klinische Diagnose stützen zu können.



Recht lehrreich in dieser Hinsicht sind einige Fälle, aus denen hervorgeht, daß in der Anstalt erst nach mehrmaliger Untersuchung Typhus oder Paratyphus nachgewiesen werden konnte.

Magd. A.	typhusverdächtig	22. 7. --	26. 7. +	9. 8. +	15. 8. --
M. B.	»	1. 9. --	18. 9. +		
P. B.	»	23. 10. --	29. 10. +		
A. D.	»	7. 10. --	20. 10. +	18. 11. --	26. 11. --
B. G.	»	11. 8. --	24. 8. Dyst. +		
B. L.	tuberkelverdächtig	17. 11. --	6. 12. +		

J. M.	typhusverdächtig	26. 10. — 2. 11.— 11. 11.— 18. 11.+
J. O.	»	29. 5. — 4. 6. — 10. 7. +
G. S.	»	28. 8. — 3. 9. Paratyphus + 9. 9. —
B. A. Sch.	»	27. 6. — 30. 6. + 18. 7. —
O. Sch.	»	23. 8. — 25. 8. Dyst. + 30. 8. —
Sch.	»	16. 10. — 24. 10.+ 12. 12. — 20. 12.—
A. St.	»	7. 9. — 15. 9. +
P. V.	»	18. 9. — 7. 10. — 20. 10. Paratyph.+ 18. 11. — 26. 11. — 7. 12. —

Zweifellos werden, wenn die allgemeine Kenntnis des Betriebes der Untersuchungsanstalten und des jetzigen Standes der Diagnostik sich bei den Praktikern noch mehr verallgemeinert haben wird, die Anforderungen seitens der Ärzte in bezug auf die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Diagnostik dem zurzeit Erreichbaren noch mehr angepaßt werden. Vor allen Dingen muß die bakteriologische Untersuchungsanstalt dadurch unterstützt werden, daß, solange die klinischen Erscheinungen bestehen, öfter Material eingesandt wird, wenn möglich auch von Rekonvaleszenten und Gesunden aus der Umgebung des Kranken. Es bedurfte in der Tat in vielen Fällen erst des Hinweises seitens der Untersuchungsanstalt, um das geeignete Untersuchungsmaterial zu erlangen, während der Gang der Untersuchung doch der sein soll, daß von seiten der betreffenden Ärzte planvoll eingesendet wird, da ja nur sie am besten eine Übersicht über die betreffenden speziellen Verhältnisse haben.

Die Bedeutung der Verbreitung der Typhusseuche durch sog. Typhusträger ist in den letzten Jahren mehr und mehr erkannt worden. Auch durch die Tätigkeit der Untersuchungsanstalt wurden im Betriebsjahre eine Reihe derartiger Personen aufgefunden, und es zeigte sich, daß auch die bei uns festgestellten fast alle dem weiblichen Geschlechte angehörten.

Daß durch das Erkennen und die sachgemäße Belehrung dieser Dauert Träger die Verbreitung der Krankheit eingeschränkt wird, ist zweifellos. In einem sehr lehrreichen Falle lagen die Verhältnisse, die zu unserer Kenntnis kamen, besonders klar: Die M. Sch. war in Merkendorf an unbestimmten Erscheinungen erkrankt und dann nach Rothenburg verzogen. In der Familie, in welcher sie Aufnahme fand, in einer Bäckerei, erkrankte sehr bald das Dienstmädchen. In ihren Dejekten konnten seitens der Anstalt Typhusbazillen nachgewiesen werden. Da der Typhusfall in Rothenburg vereinzelt dastand, veranlaßte der Kgl. Bezirksarzt eine Untersuchung der Umgebung. Es stellte sich hierbei heraus, daß die M. Sch. reichlich Typhusbazillen ausschied.

Nachdem die M. Sch. Rothenburg verlassen hatte und das erkrankte Dienstmädchen isoliert worden war, erlosch der Typhus wieder.

Dieser Fall ist besonders charakteristisch, weil er uns zeigt, wie durch rasches Eingreifen des Kgl. Bezirksamtes, der die Tätigkeit der Untersuchungsanstalt in so ausgezeichnete Weise unterstützte, die Weiterverbreitung des Typhus verhindert werden konnte.

In dem bereits beschriebenen Fall von L. konnten wir sehen, daß auch die Dauerträger ständig in einer nicht zu unterschätzenden Gefahr schweben, selbst zu erkranken, sogar zugrunde zu gehen.

Wenn die Bazillenträger auch nicht das für die betreffende Infektionskrankheit charakteristische klinische Bild zu bieten pflegen, so haben wir doch an einigen Fällen, die zumeist gemeinsam mit dem pathologischen Universitätsinstitute beobachtet wurden, nach dieser Richtung hin Bemerkenswertes gesehen: Es kamen in der pathologischen Anstalt zwei Fälle zur Sektion, die vor dem Tode nur unbestimmte klinische Erscheinungen dargeboten hatten, so daß eine sichere Diagnose nicht gestellt werden konnte; bei der Sektion zeigten sich eitrige Prozesse an der Gallenblasenwand, die nach dem Peritoneum übergegriffen hatten. In den eitrigen Massen waren, wie von unserer Seite festgestellt wurde, massenhaft Typhusbazillen.

Es kommt also zweifellos bei derartigen Dauerträgern unter Umständen zu Eiterungen infolge der sich vermehrenden Typhusbazillen. Der Organismus der Dauerträger ist ja nicht so wie der normale imstande, die pathogenen Keime vollständig zu eliminieren. Alle Gründe hierfür sind unserem Verständnis noch nicht erschlossen. In einigen Fällen jedoch fiel der gänzliche Mangel an Agglutination sogar dem eigenen Stamm gegenüber auf. Durch diese Fälle mit fehlenden Agglutiningehalt im Serum wurden wir daran erinnert, daß die Bestimmung des Agglutinationstiters im Serum als Hilfsmittel für das Aufsuchen der Dauerträger vielfach versagen muß.

Tabelle der mit dem eigenen Serum nicht agglutinierenden Stämme von Dauerträgern im Berichtsjahr.

Stamm	Serum	Agglutinationstiters							
		1:10	1:50	1:80	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000
Nk	Nk	—	—	—	—	—	—	—	—
Ty Kaiserl. Ges.-Amt	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B K. Ges.-A.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Shiga-Kr. „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Flexner „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B Bab.W.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Nk	Ty Kaiserl. Ges.-Amt	+	+	+	+	+	+	+	—
Nm	Nm	—	—	—	—	—	—	—	—
Ty Kaiserl. Ges.-Amt	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B K. Ges.-A.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Shiga-Kr. „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Flexner „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B Bab.W.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Nm	Ty Kaiserl. Ges.-Amt	+	+	+	+	+	+	+	—
Schn	Schn	—	—	—	—	—	—	—	—
Ty Kaiserl. Ges.-Amt	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B K. Ges.-A.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Shiga-Kr. „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Flexner „ „ „	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Paraty B Bab.W.	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Schn	Ty Kaiserl. Ges.-Amt	+	+	+	+	+	+	+	—

Anderseits ist bekanntlich auch die Möglichkeit gegeben, daß die bei den Dauerträgern wuchernden Stämme den zerstörenden Einflüssen der Körpersäfte gegenüber resistent sind (serumfeste Stämme). Im Berichtsjahre kam es auch hier mehrfach zur Beobachtung, daß anfänglich schwer agglutinierende Stämme, die von Dauerträgern herstammten, nach weiterem Fortzüchten auf künstlichen Nährböden leichter agglutinabel wurden. Doch sind ja die Agglutinine Stoffe, die mit den eigentlichen Heilungsvorgängen nur wenig zu tun haben, so daß es nicht statthaft ist, hier allzu weitgehende Schlüsse zu ziehen. In bezug auf Stämme, die den Bakteriolytinen des eigenen Körpers gegenüber resistent sind, siehe das Lehrbuch von Dieudonné S. 61: Dieser Autor beobachtete, daß Typhusbazillen, welche von dem Serum des Kranken, aus dem sie gezüchtet waren, nur schwach aufgelöst wurden, vom Serum eines zweiten Kranken stark beeinflußt wurden.

Stellen sich Differenzen heraus zwischen vorläufigem klinischen Befunde und dem Resultate der bakteriologischen Untersuchung, so sollten die Herren Praktiker doch noch mehr als bisher dem positiven bakteriologischen Befunde Wert beilegen und sich veranlaßt sehen, ihre Diagnose zu revidieren. Das gilt vor allen Dingen für solche positive Befunde, bei denen es möglich war, die betreffenden Krankheitserreger in Reinkultur zu gewinnen. Aber auch wenn wiederholt negative Befunde vorliegen, muß das unbedingt bei Beurteilung des Krankheitsbildes in Betracht gezogen werden.

Als Beweis hierzu sei ein Fall angeführt, welcher als Typhus diagnostiziert worden war und bei dem wiederholte Stuhluntersuchungen Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriebazillen nicht ergeben hatten. Das entsprach zunächst den gehegten Erwartungen keineswegs. Bei der Sektion zeigte sich jedoch später, daß es sich nicht um Typhus, sondern um Miliarituberkulose gehandelt hatte.

Nicht allzu selten wurde die Tätigkeit der Untersuchungsanstalt in Fällen angeblicher Wurstvergiftung in Anspruch genommen. Gewöhnlich erfolgte die Untersuchung auf Antrag eines Staatsanwaltes, der einer Anzeige fahrlässiger Nahrungsmittelvergiftung stattgeben mußte.

In der Regel waren die uns zugegangenen, den betreffenden Geschäften entnommenen Wurstproben von tadelloser Beschaffenheit, und es ließen sich irgendwelche pathogene Mikroorganismen darin nicht auffinden, auch in den Fällen nicht, wo in den Organen der Verstorbenen einmal Paratyphus B-Bazillen, ein zweites Mal Typhusbazillen und im dritten Falle Dysenteriebazillen (Sh.-Kr.) nachgewiesen werden konnten. Die eingesandten Wurstproben standen also auch hier mit den Todesfällen nicht in ursächlichem Zusammenhang. Selbst in dem Falle, als Paratyphus B-Bazillen in einer Wurstprobe gefunden wurden, konnte daraus ein direktes Verschulden der betreffenden Lieferanten noch nicht abgeleitet werden. Maßgebend für die Schuldfrage ist ja lediglich der Befund an Ort und Stelle, durch welchen augenscheinliche Nachlässigkeiten nachzuweisen sind.

Wir können uns auf Grund unseres Materials der Ansicht nicht verschließen, daß, was die sog. Wurstvergiftung anbelangt, vielfach vom Pu-

blikum voreilige falsche Beschuldigungen erhoben und die Anklagebehörden zu Unrecht belästigt werden.

Oft genügt ja schon der unerwartete plötzliche Tod eines Gesunden, um sofort Verdacht zu erwecken.

So war z. B. K. H. plötzlich an Dysenterie verstorben, wie die bakteriologische Untersuchung ergab. Die Anklage gegen einen Metzger, zu der inzwischen der Staatsanwalt gedrängt worden war, wurde, da die Waren des Angeklagten sich als tadellos herausstellten, natürlich sofort fallen gelassen.

Im Krankenhaus zu Schwabach starb ein 17½ jähriger junger Mann nach nur eintägigem akuten Brechdurchfall. Bei der Sektion fand sich eine Schwellung der lymphatischen Apparate des ganzen Darmkanals. Derartige von pathologischer Seite als „Status lymphaticus“ bezeichnete, ätiologisch dunkle Fälle werden jetzt vielfach durch die Auffindung von Typhus- oder Paratyphusbazillen aufgeklärt. Auch in unserem Falle wurden solche aufgefunden.

Uns erscheint es nicht ausgeschlossen, daß es sich in derartigen Fällen vielfach um Dauerträger handelt, bei denen die Wucherung der Bazillen überhand genommen hat. Zweifellos wird in diese Verhältnisse mehr Licht gebracht werden, wenn es mit Hilfe der praktischen Ärzte gelingen wird, in noch viel ausgedehnterem Maße auch in der Bevölkerung die Dauerträger aufzuspüren und fortlaufend zu beobachten.

Außerordentlich leicht werden also solche Todesfälle lediglich auf Nahrungsmittelvergiftung zurückgeführt, und es erfolgt die Anzeige, daß irgendein Metzger minderwertige Fleischwaren verkauft habe.

Dagegen wäre es zweifellos im Interesse der Nahrungsmittelhändler, wenn weit mehr als bisher in den Schlachthäusern Proben aus geschlachtetem Vieh, das in irgendwelcher Weise verdächtig ist, entnommen und der bakteriologischen Untersuchungsanstalt zugesandt würden. Im Herzogtum Anhalt besteht bereits eine derartige Bestimmung. Es muß dort septikämieverdächtiges Material in die Untersuchungsanstalt zu Halle eingeschickt werden. (Verfügung der Regierung, Abt. des Innern, an die Kreispolizeibehörden, betr. die bakt. Fleischschau. 8. Sept. 1911.)

Durch eine derartige prophylaktische Maßnahme kann zweifellos die Möglichkeit von sog. Fleischvergiftungen eingeschränkt werden. In den Schlachthäusern im Bereiche der Untersuchungsanstalt schien allerdings im ersten Betriebsjahre kein Bedürfnis zu bestehen, bakteriologische Untersuchungen bei uns ausführen zu lassen.

In den Heil- und Pflegeanstalten unseres Bezirkes wurde in letzter Zeit mehr und mehr dem Vorkommen von Dauerträgern unter den Geisteskranken Aufmerksamkeit zugewandt, und es wurden, soweit Mittel zur Verfügung standen, die Exkrete hauptsächlich der weiblichen Insassen durchuntersucht. Es fanden sich auch mehr Dauerträger von Typhus und Paratyphus als erwartet werden konnten. Die Durchuntersuchung geschah in der Heil- und Pflegeanstalt Erlangen im Einverständnis mit der Direktion in folgender Weise: Die Patienten wurden zur Entnahme

ihres Stuhles isoliert; sie bekamen dann Rizinusöl, so daß der flüssige Inhalt der oberen Darmpartien zur Untersuchung kommen konnte.

Was die K \ddot{u} ltur der anaeroben Bazillen, unter denen die Botulinuskeime praktisch die wichtigsten sind, anbetrifft, so ist deren Z \ddot{u} chtung in den letzten Jahren wesentlich vereinfacht worden. Fr \ddot{u} her mu \ddot{s} te man bekanntlich den Sauerstoff mit dem leicht entz \ddot{u} ndlichen und daher nicht ungef \ddot{a} hrlichen Wasserstoff vertreiben (im Botkinschen Apparat), um Platten bei Sauerstoffabschlu \ddot{s} zu halten. Durch die Bem \ddot{u} hungen von L e n t z und H e i m wurde ein vereinfachtes Verfahren gefunden. Es werden bei uns nach der Heimschen Technik die anaeroben Kulturen wie folgt angelegt: Auf einer Glasplatte, die gr \ddot{o} \ddot{b} er sein mu \ddot{s} als der Durchmesser der Schale, wird mit Plastilin, das zu einer Stange gerollt ist, ein Kreis gebildet, genau dem Durchmesser der Schale entsprechend. In den Kreis wird so, da \ddot{s} sein gr \ddot{o} \ddot{b} ter Teil f \ddot{u} r die Beobachtung der Kultur frei bleibt, ein mit Wasser getr \ddot{a} nkter und wieder gut ausgedr \ddot{u} ckter Wattebausch von 0,5 bis 0,7 g Gewicht gelegt. Auf ihn gie \ddot{s} t man eine frische L \ddot{o} sung von 0,7 Pyrogallol in 1½ ccm hei \ddot{s} em Wasser; dann beimpft man die Schale, h \ddot{a} lt sie mit der n \ddot{a} hrbodentragenden Schicht nach unten, \ddot{u} bergie \ddot{s} t die Watte mit 4—5 ccm Kalilauge und dr \ddot{u} ckt sofort die Schale in den Plastilinring hinein; dann dichtet man durch Verstreichen gut ab.

In den bakteriologischen Untersuchungsanstalten drohen dem Personal bekanntlich mancherlei Gefahren. Abgesehen von Ungl \ddot{u} cksf \ddot{a} llen durch Beschmutzen der Finger, ungen \ddot{u} gende Desinfektion u. \ddot{a} ., wodurch pathogene Keime in den K \ddot{o} rper gelangen k \ddot{o} nnen, was ja bei Vorsicht vermeidbar ist, beobachtet man hier und da Erkrankungen, welche auf Ungl \ddot{u} cksf \ddot{a} lle beim Pipettieren gef \ddot{a} hrlichen Materials zur \ddot{u} ckzuf \ddot{u} hren sind. Es kommt vor, da \ddot{s} beim Ansaugen ein Tr \ddot{o} pfcchen in den Mund gelangt, namentlich wenn sich das Pipettenende verstopft oder nur noch Reste von Fl \ddot{u} ssigkeit in dem R \ddot{o} hrchen vorhanden sind. Diese Infektionsgefahr ist in unserer Anstalt vollkommen ausgeschaltet: Eine Saugvorrichtung, die sog. „Mikra“, durch welche das Ansaugen mit dem Munde \ddot{u} berfl \ddot{u} ssig wird, liegt in mehreren Exemplaren bereit. Es haben die an der Anstalt arbeitenden Herren sich \ddot{a} u \ddot{b} erordentlich schnell an diese Einrichtung gew \ddot{o} hnt und sehen aus eigenem Antriebe vollkommen von jeglichem Ansaugen der Pipetten mit dem Munde ab.

Wenn eine Untersuchungsanstalt zuzeiten des Fehlens von Epidemien wenig besch \ddot{a} ftigt ist, so bietet sich g \ddot{u} nstige Gelegenheit, Fortschritte der feineren Diagnostik nachzupr \ddot{u} fen oder durch weitere Versuche Verbesserungen anzubahnen. Wir selbst haben diese Gepflogenheit nach M \ddot{o} glichkeit ausgenutzt, und es sind im Berichtsjahre einige Arbeiten aus der Anstalt hervorgegangen, die, wie wir hoffen, f \ddot{u} r einen gewissen Eifer und Flei \ddot{s} auf diesem rein wissenschaftlichen Gebiete Zeugnis ablegen. So m \ddot{o} chte ich anf \ddot{u} hren:

W e i c h a r d t , „ \ddot{U} ber weitere Versuche Antigen-Antik \ddot{o} rperwirkungen sichtbar zu machen“. Berlin. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 43.

S t \ddot{o} t t e r , „ \ddot{U} ber den gegenw \ddot{a} rtigen Stand der Studien mit der Epiphantinreaktion“. Zeitschr. f \ddot{u} r Immunit \ddot{a} tsforschung 1911, 11. Bd. 6. Heft.

Rosenthal E., „Versuche, Antigen- und Antikörperbeeinflussungen sichtbar zu machen“. Experimentelle Studien mit der Epiphanyreaktion, I. Mitteilung. Zeitschr. für Immunitätsforschung 1912, 13. Bd., 4. Heft.

Der zweite Direktor war außerdem beschäftigt, eine Forschung, die mit Professor Schittenhelm im Jahre 1910 über endemischen Kropf in Bayern begonnen worden war, mit diesem gemeinsam fortzuführen. Die Resultate der beiden Autoren sind niedergelegt in einer bei Springer, Berlin, erschienenen Monographie: Der endemische Kropf, mit besonderer Berücksichtigung seiner Verbreitung im Königreich Bayern. Diese Studien geben gewissermaßen eine Grundlage für die weitere Forschung in bezug auf Ätiologieverbreitung und Bekämpfung der Krankheit in Bayern.

Tabelle I.

Tabelle über Zahl und Art der Untersuchungsproben.

Material	Ringesandt für Untersuchung	Gesamtzahl	+	-
Stuhl (453)	Typhus	450	75	314
	Paratyphus		46	
	Dysenterie		15	
	Gärtner		—	
	Tuberkulose	1	—	1
	Streptokokken	1	1	—
	Infekt. Ikterus	1	1	—
Urin (46)	Typhus	38	1	37
	Paratyphus		—	
	Dysenterie		—	
	Gärtner	—	6	
	Tuberkulose	6	—	6
	Gonokokken	2	—	2
Blut Agglutination (75)	Typhus	75	11	63
	Paratyphus		1	
	Dysenterie		—	
	Gärtner		—	
Blut (Kultur)	Streptokokken	3	2	1
Blut (Ausstrich)	Malaria	3	—	3
Blut (Wasserm.)	Lues	141	52	89
Spinal- und Lumbalflüssigkeit (21)	Genickstarre	11	1	10
	Lues	8	4	4
	Staphylokokken	2	1	1
Auswurf (44)	Tuberkulose	43	12	31
	Aktinomyose	1	—	1
Rachen- und Nasenabstrich (30)	Diphtherie	27	13	14
	Angina Vinc	2	2	—
	Meningokokken	1	—	1

Tabelle I (Fortsetzung).

Material	Eingesandt für Untersuchung	Gesamtzahl	+	-
Sekret (30)	Gonokokken	15	6	9
	Streptokokken	5	4	1
	Tuberkulose	6	1	5
	Milzbrand	2	—	2
	Typhus	2	—	2
Organe, Würste und Fleisch (36)	Typhus	30	3	2
	Paratyphus		16	5
	Dysenterie		4	—
Kulturen (6)	Kokken	3	—	3
	Meningokokken	1	—	1
	Typhus	2	—	2
Flüssigkeiten und Wasser (76)	Milch auf Tuberkulose	2	—	2
	Typhus	54	1	53
	Dysenterie	1	—	1
	Keimgehalt	19	14	5
zusammen		958	287	671

Weiter wurden 37 Sporenproben bei der Prüfung von Desinfektionsapparaten untersucht, wodurch sich die Gesamtsumme der Untersuchungen auf 995 erhöht.

Tabelle II.

Zahl der Verträge mit Distriktsgemeinden, Gemeinden, Anstalten und Ärzten.

	Distrikts-gemeinden	Stadt-gemeinden	Gemeinden	Kliniken	Heil- und Pflege-anstalten	Ärzte	Ärztliche Vereine	Gesamtzahl
Mittelfranken .	13	6	1	7	3	1	—	32
Nürnberg . . .	1	—	—	—	—	7	—	8
Oberpfalz . . .	12	4	5	—	1	6	1	28
Gesamtsumme	26	10	6	7	4	14	1	68

Tabelle III.

Untersuchungen wurden beantragt von:

Stadt-gemeinden	Distrikts-gemeinden	Land-gemeinden	Ärzten	Anstalten	Gesamtsumme der Untersuchungen
279	53	61	418	184	995

Jahresbericht der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Würzburg.

Von
Dr. J. Leuchs,
2. Direktor.

Die bakteriologische Untersuchungsanstalt Würzburg war während des Berichtsjahres provisorisch im Gebäude des Hygienischen Institutes der Universität, Köllikerstraße 2, untergebracht. Es standen ihr daselbst drei Zimmer zur Verfügung, von welchen das größte dreifensterige als Laboratorium und Brutschrankraum benutzt wurde, während ein kleineres zweifensteriges als Schreibzimmer und Arbeitsraum für den Direktor diente. In dem kleinsten einfensterigen Raum endlich war die Spülküche untergebracht. Der Tierstall befand sich in einem zum Pathologischen Institut gehörigen Raum, den Herr Prof. Dr. K r e t z in liebenswürdigster Weise der Anstalt zu zeitweiliger Benutzung überlassen hatte.

Das Personal der Anstalt setzte sich zusammen aus dem ersten und zweiten Direktor, einer Präparatorin und einem Diener. Ab August kam noch eine Volontärpräparatorin hinzu.

An Vereinbarungen nach Ziff. II, 2 und II, 3 der Minist.-Bekanntmachung vom 6. September 1910 haben während der Berichtszeit 17 mit Distriktsgemeinden (Unterfranken 12, Oberfranken 5), 7 mit Stadtgemeinden (Unterfranken 4, Oberfranken 3), 6 mit Krankenanstalten (Unterfranken 2, Oberfranken 3, Pfalz 1), eine mit einem unterfränkischen ärztlichen Verein und 11 mit Ärzten (Unterfranken 7, Oberfranken 4) bestanden.

Während der elfmonatlichen Berichtszeit wurden insgesamt 827 Proben zur Untersuchung eingeliefert.

Von diesen 827 Proben stammten 496 aus Unterfranken, 193 aus Oberfranken und 138 aus der Rheinpfalz.

An der Einsendung der Proben waren 98 Privatärzte, und zwar 66 unterfränkische, 30 oberfränkische und nur zwei pfälzische beteiligt, ferner 37 Distriktsgemeindebehörden bzw. beamtete Ärzte, Gemeinde- und son-

stige Behörden (31 unterfränkische, 6 oberfränkische) sowie endlich 18 Krankenanstalten (8 unterfränkische, 8 oberfränkische, 2 pfälzische).

277 Untersuchungen wurden von Antragstellern beantragt, die mit der Anstalt in keinem Vertragsverhältnis standen, 131 von Gemeinden, die Vertrag nach Ziff. II, 2 abgeschlossen hatten, 387 von Ärzten, Krankenanstalten usw. mit Vereinbarungen nach Ziff. II, 3. 81 Untersuchungen waren gebührenfrei.

Im einzelnen wurde die Untersuchungsanstalt bei folgenden Krankheiten und zur Untersuchung nachstehend aufgeführter Gegenstände in Anspruch genommen:

Typhus :			
383 Proben:	110 Blutproben, serologisch	63 positiv	47 negativ
	3 Blutproben, kulturell	0 „	3 „
	184 Stuhlproben	14 „	170 „
	70 Harnproben	0 „	70 „
	16 Wasserproben	1 „	15 „
Paratyphus :			
12 Proben:	9 Blutproben	8 „	1 „
	3 Stuhlproben	1 „	2 „
Cholera :			
	1 Stuhlprobe	0 „	1 „
Tuberkulose :			
137 Proben:	127 Sputumproben	40 „	87 „
	1 Zerebrospinalflüssigkeit	1 „	0 „
	1 Pleuraexsudat	0 „	1 „
	1 Eiterprobe	0 „	1 „
	4 Urinproben	0 „	4 „
	3 Stuhlproben	1 „	2 „
Diphtherie :			
22 Proben:	20 Rachenabstriche	5 „	15 „
	1 Trachealsekret	0 „	1 „
	1 Sputumprobe	0 „	1 „
Milzbrand :			
2 Proben:	1 Pustelinhalt	0 „	1 „
	1 Blutprobe	0 „	1 „
Streptokokkensepsis :			
	1 Eiterprobe	1 „	0 „
Pneumonie :			
5 Proben:	2 Sputumproben	2 „	0 „
	2 Emphyemepitproben	2 „	0 „
	1 Pleuraerguß (serös)	1 „	0 „

Meningitis (epidemische):

8 Proben:	1 Lumbalflüssigkeit	1 positiv	0 negativ
	2 Blutproben	0 „	2 „
	4 Rachenabstriche	0 „	4 „
	1 Sputum	0 „	1 „

Gonorrhoe :

34 Proben:	27 Harnröhren- bzw. Schei-		
	den- oder Zervixsekr.	11 „	16 „
	6 Urinproben	1 „	5 „
	1 Konjunktivaleiterprobe	1 „	0 „

Syphilis :

186 Proben:	182 Blutproben, serologisch	77 „	105 „
	4 Sekretproben, miskrosk.	0 „	4 „

Febris recurrens :

	1 Blutausstrich	0 „	1 „
--	-----------------	-----	-----

Malaria :

	2 Blutausstriche	1 „	1 „
--	------------------	-----	-----

Leukämie :

2 Proben:	1 Blutausstrich, mikrosk.	1 „	1 „
	1 Blutprobe zur Blutkörperchenzählung	1 „	0 „

Anämie :

	1 Blutprobe	0 „	1 „
--	-------------	-----	-----

Wasser zur Bestimmung der Keimzahl: 13 Proben

Haarkrankheiten :

	1 Büschel Kopffaare zur Untersuchung auf Pilze	0 positiv	1 negativ
--	--	-----------	-----------

Tierkrankheiten :

	Organe von verendeten Hühnern auf Krankheitserreg.	0 „	1 „
--	--	-----	-----

Bakterienkultur :

1 zur Bestimmung.

Desinfektionsapparat :

1 zur Prüfung der Leistungsfähigkeit.

Nephritis :

5 Proben:	3 Urinproben zur Eiweißbestimmung	3 positiv	0 „
	2 Urinproben zur Untersuchung auf organisierte Sedimente	1 „	1 „

Diabetes :

5 Proben:	2 Urinproben zur Zuckerbestimmung	1 positiv	1 negativ
	3 Urinproben zur Zucker- u. Eiweißbestimmung	2 „	0 „

Drei Einsendungen waren wegen falscher Behandlung durch die Antragsteller nicht zu untersuchen.

Bei den Typhusuntersuchungen handelte es sich, wie aus vorstehender Übersicht hervorgeht, in 110 Fällen um Anstellung der Gruber-Widalschen Reaktion. Dieselbe wurde in der üblichen Weise im hängenden Tropfen ausgeführt. Jede Serumprobe wurde außer mit Typhusbazillen auch auf ihr Verhalten gegenüber Paratyphusbazillen B geprüft. Als positiv wurde die Reaktion bezeichnet, wenn bei einer Serumverdünnung von 1:100 noch deutliche Agglutination zu beobachten war. Meist war auch noch in der Serumverdünnung 1:200 deutliche, oft starke Agglutination zu registrieren. Schwache Agglutinationen (nur bei einer Serumverdünnung 1:50 oder undeutlich noch bei der Serumverdünnung 1:100) wurden relativ selten beobachtet. In solchen Fällen sah man von einer Diagnosenstellung ab und teilte den Antragstellern lediglich den tatsächlichen Befund mit.

Von den insgesamt 110 Blutproben zeigten bei dergestalter Prüfung 63 gleich 57,2% positive Reaktion. Bringt man indes 28 aus der Pfalz stammende Untersuchungen in Abzug, bei denen es sich nicht um Erkrankungen an Typhus, sondern um die Auffindung von Bazillenträgern in einer Irrenanstalt handelte, so verbleiben 82 Blutuntersuchungen mit 52 positiven Resultaten. Positive Reaktion war demnach in 63,4% zu verzeichnen.

Bei nicht zu geringer Blutmenge wurden die Blutproben, selbst wenn ein Antrag hierzu nicht erfolgt war, stets auch kulturell durch 24 stündige Bebrütung in Rindergalle und nachfolgende Überimpfung auf Drigalskiagar auf das Vorhandensein von Typhusbazillen untersucht. Trotz der für diesen Zweck immer recht geringen Blutmengen, wie sie mit unserer Entnahmeverrichtung B zur Einsendung kommen, gelang uns doch in mehreren Fällen mit positiver Agglutination auch die Züchtung der Krankheitserreger. In einem Falle, der sehr frühzeitig nach Beginn der Erkrankung zur Untersuchung kam und bei welchem die Agglutination noch negativ ausfiel, ermöglichte der positive Ausfall des Züchtungsversuches allein die richtige Diagnosenstellung. Dagegen ergaben drei in reichlicher Menge und mit dem Antrag auf kulturelle Untersuchung zur Einsendung gebrachte Blutproben negative Resultate sowohl mit dem Züchtungs- als auch mit dem Agglutinationsverfahren.

Die Stuhluntersuchungen auf Typhus wurden mit Hilfe von Drigalski- und Malachitgrünagar ausgeführt. Gewisse Mengen der breiigen oder, soferne sie fest, zuerst mit physiologischer Kochsalzlösung verriebenen Stuhlproben wurden auf eine Malachitgrünagarplatte mittlerer Größe gebracht und mit einem Glasspatel unter kräftigem Reiben verteilt. Mit demselben Spatel wurden sodann drei Drigalskiagarplatten mittlerer Größe beimpft. Nach 24 stündiger Bebrütung dieser Plattenserie durchmusterte man zu-

nächst die Drigalskischalen auf verdächtige Bakterienkolonien. Fanden sich solche, so unterwarf man sie der orientierenden Agglutinationsprobe mit einem hochwertigen Typhusimmunserum. Es braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß bei dieser Durchmusterung auch auf andere verdächtige Bakterienkolonien (Paratyphus, Ruhr usw.) Bedacht genommen und dieselben mit den entsprechenden Immunseris geprüft wurden. Agglutinierende Kolonien wurden sofort auf gewöhnlichen Agar überimpft und mit diesen Kulturen, sofern das Wachstum es erlaubte, womöglich noch am gleichen Tage die makroskopische Agglutination angesetzt, sowie die chemischen Nährböden (Lackmusmolke, Neutralrotagar, Barsiekownährböden, Milch usw.) beimpft. Zeigte der Stamm in den chemischen Nährböden typisches Verhalten und wurde er bei der makroskopischen Agglutination deutlich noch von hohen Serumverdünnungen beeinflußt, so wurde die Diagnose Typhus abgegeben. Waren auf den Drigalskischalen Typhuskolonien nicht aufgefunden worden, so wurde die Malachitgrünplatte zunächst in der gleichen Weise auf verdächtige Kolonien durch direkte Untersuchung geprüft, und wenn auch hierbei solche nicht zu finden waren, weiterhin das Lenz-Tietzsche Anreicherungsverfahren in Anwendung gebracht.

Von den 184 in vorstehend geschilderter Weise auf Typhus untersuchten Stuhlproben ergaben 14 = 7,6% ein positives Resultat. Bei 12 dieser positiven Fälle war die Diagnose mit Hilfe des Drigalskiagars gestellt worden, und nur in zwei Fällen hatte dieser versagt, während auf den Malachitgrünplatten Typhusbazillen noch nachgewiesen werden konnten.

Es würden nun 7,6% positiver Resultate nicht sehr zugunsten des von uns geübten Untersuchungsverfahrens sprechen, wenn hierbei nicht zu berücksichtigen wäre, daß mehrere der untersuchten Stühle von Personen stammten, bei denen eine **E r k r a n k u n g** an Typhus überhaupt nicht in Frage kam, so bei 63 Stuhlproben, welche von gesunden, jedoch als Bazillenträger in Betracht kommenden Personen herrührten, ferner bei sechs Stuhlproben, welche von gesunden Angehörigen eines Typhuskranken herrührten. Eine weitere große Anzahl von Stuhlproben — 85 — stammte von fieberfreien Typhusrekonvaleszenten und war zum Zwecke der Nachuntersuchung, ob Typhusbazillen noch zur Ausscheidung kämen, eingesandt worden.

Bringt man diese insgesamt 154 Stuhlproben in Abzug, so verbleiben 30 von fiebernden, typhusverdächtigen Personen herrührende, zur diagnostischen Untersuchung eingesandte Stühle, bei welchen sechsmal, also in 20%, Typhusbazillen nachgewiesen werden konnten. Auch hierbei fällt noch ins Gewicht, daß eine Reihe dieser Stühle erst relativ spät (ca. in der vierten bis sechsten Krankheitswoche) zur Einsendung gelangte.

Bei allen Stuhluntersuchungen, welche zum Zwecke der Auffindung gesunder Bazillenträger in der Umgebung von Typhuskranken ausgeführt wurden, war das Resultat ein negatives. Derartige Untersuchungen wurden übrigens in Anbetracht der relativ großen Verbreitung des Typhus namentlich in Unterfranken auffallend spärlich beantragt.

Hinsichtlich der nach § 10 Absatz VII der Bekanntmachung vom 9. Mai 1911 über die Bekämpfung übertragbarer Krankheiten vorgeschriebenen Nachuntersuchungen wurden folgende **Erfahrungen gesammelt**.

Von insgesamt 67 Typhuspatienten wurden die Nachuntersuchungen nur in 30 Fällen vorschriftsmäßig je zweimal und öfters beantragt, so lange, bis in zwei aufeinanderfolgenden Proben Typhusbazillen nicht mehr nachweisbar waren.

Von 16 Fällen kam nur je eine Stuhlprobe, in der Typhusbazillen nicht nachgewiesen werden konnten, zur Nachuntersuchung. Von 19 Fällen ist Material zu Nachuntersuchungen überhaupt nicht eingelaufen. Endlich kamen in einem klinisch diagnostizierten Fall zwei Stuhlproben und in einem weiteren serologisch festgestellten Fall ein Stuhl zur Nachuntersuchung, wobei jedesmal Typhusbazillen aufgefunden werden konnten. Erneute Untersuchungsanträge sind trotzdem nicht erfolgt. Ob alle diese letztgenannten 37 Fälle letal endigten bzw. einer zehnwöchentlichen Absonderung unterworfen wurden, entzieht sich unserer Kenntnis.

Die Nachuntersuchungen hatten positives Ergebnis in fünf Fällen, und zwar wurden die Erreger in einem Fall nach 3½, in drei weiteren nach 4½ Wochen nach Beginn der Erkrankung in den Stuhlproben vorgefunden.

Die längste Ausscheidungsdauer, die bei unseren Fällen zur Beobachtung kam, betrug 6 bzw. 14 Wochen nach Krankheitsbeginn und betraf eben jene beiden oben bereits erwähnten Patienten, von welchen weiteres Material nicht zur Einsendung gelangte.

Bei 70 auf Typhusbazillen zu untersuchenden Harnproben war das Resultat stets ein negatives. Die Untersuchung erfolgte unter Zuhilfenahme von ein bis zwei kleinen Drigalskiagarplatten.

Relativ häufig wurde Trink- bzw. Gebrauchswasser zur Untersuchung auf Typhusbazillen eingeliefert. 2 l des zu untersuchenden Wassers wurden nach den Angaben Müllers mit 5 ccm Liquor ferri oxychlorati ausgefällt und der abfiltrierte Niederschlag zur weiteren Verarbeitung in der oben bereits geschilderten Weise auf Malachitgrünagar- und Drigalskiagarplatten verimpft.

Nachstehende Tabelle soll über die Zahl der Typhusuntersuchungen in den einzelnen Monaten Aufschluß geben.

Monat	Blut		Stuhl		Urin		Wasser	
	Gesamtzahl	+	Gesamtzahl	+	Gesamtzahl	+	Gesamtzahl	+
Februar . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
März	1	1	2	—	—	—	—	—
April	2	1	1	—	1	—	5	—
Mai	4	2	2	—	1	—	—	—
Juni	6	3	5	1	2	—	4	1
Juli	30	14	55	1	49	—	4	—
August . . .	25	17	23	1	10	—	1	—
September .	14	8	32	1	4	—	2	—
Oktober . . .	13	7	18	6	1	—	—	—
November . .	10	6	34	3	1	—	—	—
Dezember . .	8	4	12	1	1	—	—	—
	113	63	184	14	70	—	16	1

Hinsichtlich des Nachweises von Paratyphus B-Bazillen sei bemerkt, daß die Untersuchungsmethodik eine analoge wie die beim Typhus gehandhabte war. Es handelte sich um neun mit Hilfe der Agglutination zu prüfende Blutproben — positives Resultat lieferten acht — und um drei kulturell zu prüfende Stühle mit einem positiven Ergebnis.

Mitte September wurde aus Bamberg eine Stuhlprobe mit Choleraverdacht zur Einsendung gebracht. Die Untersuchung wurde vorschriftsmäßig nach der Anweisung des Bundesrates zur Bekämpfung der Cholera durchgeführt. Das Ergebnis ließ den Verdacht als unbegründet erscheinen.

137 während der Berichtszeit eingesandte Proben waren laut Antrag auf Tuberkelbazillen zu untersuchen. In weitaus der Mehrzahl — 127 — handelte es sich hierbei um Sputumproben. Von jedem Sputum wurden vier Präparate nach Ziehl-Neelsen gefärbt, und je zwei von zwei verschiedenen Untersuchern auf das Vorhandensein der Kochschen Stäbchen geprüft. Wurde bei diesem Vorgehen in den Originalpräparaten nichts gefunden, so kam, sofern das Sputum in flüssigem Zustande (nicht auf Objektträger angetrocknet) eingesandt worden war, das Bernhardsche Antiformin-Ligroin-Anreicherungsverfahren zur Durchführung. Es sei gleich hier bemerkt, daß es uns nur in fünf Fällen gelungen ist, hiermit positive Resultate zu erzielen, wenn die Untersuchung der Originalpräparate im Stich gelassen hatte.

Die Erreger der Tuberkulose ließen sich bei 40 der 127 Proben, somit in 31,5% nachweisen.

Die übrigen Tuberkuloseuntersuchungen betrafen vier Urinproben, sämtlich mit negativem Resultat, drei Stuhlproben mit einem positiven Ergebnis (nur mikroskopisch, Tierversuch wurde vom Antragsteller abgelehnt), eine Zerebrospinalflüssigkeit mit positivem Resultat sowie ein Pleuraexsudat und eine Eiterprobe aus einem paranephritischen Abszeß, beide mit negativem Resultat. Bei den Urinuntersuchungen kam in drei Fällen der Tierversuch in Anwendung, einmal war lediglich mikroskopische Untersuchung vom Antragsteller ausdrücklich gewünscht.

An Diphtheriematerial liefen 20 Rachenabstriche, ein Trachealsekret und ein Sputum ein. Die Untersuchung wurde, sofern vom Antragsteller nicht ausdrücklich nur mikroskopische Prüfung verlangt war, stets auch kulturell mit Hilfe von drei Löfflerschen Blutserumplatten bewerkstelligt. Das Wachstum wurde hierbei erstmalig schon nach sechstündiger Bebrütung bei 37° durchmustert und, wenn nichts gefunden wurde, nochmals nach 24- und 48 stündiger Bebrütung. Zur Färbung kam das M. Neißersche Verfahren in Anwendung.

Fünf der 20 Rachenabstriche gaben positives Resultat — 25% —, alle übrigen Proben waren negativ.

Von keinem der positiven Fälle wurde Material während der Rekonvaleszenz der Patienten eingesandt zur Feststellung, ob die Erreger nun auch tatsächlich verschwunden seien und der Rekonvaleszent eine Gefahr für seine Umgebung nicht mehr darstelle. Ebenso wenig wurde von den negativen Fällen ein zweites Mal Material eingeliefert, wie das in Anbetracht

des Umstandes, daß bei bestehender Diphtherie nicht in jeder Probe die Stäbchen nachzuweisen sind, sehr wünschenswert gewesen wäre. Endlich betraf keine der Untersuchungen Material, das aus der Umgebung der Patienten von gesunden Personen stammte. Also auch Umgebungsuntersuchungen zur Ausfindigmachung gesunder Bazillenträger kamen nicht zum Antrag.

Negatives Resultat hatten zwei Untersuchungen auf Milzbrand (Pustelinhalt und eine Blutprobe), bei welchen sowohl der Tier- als auch der Züchtungsversuch in Anwendung gelangte.

Die Untersuchung einer von einem Fall mit multiplen Abszessen stammenden Eiterprobe ergab als Ursache der Sepsis Streptokokken.

Fünf Proben (zwei Sputa, ein seröser Pleuraerguß, zwei Empyemeprobe) sollten auf Pneumokokken untersucht werden. Der Nachweis gelang in allen Fällen. Er erfolgte kulturell und im Tierversuch (Mäuse).

Die Feststellung der epidemischen Genickstarre bezweckten sieben Untersuchungen. Bei einer Lumbalflüssigkeit verursachte der Nachweis der Weichselbaumschen Meningokokken keinerlei Schwierigkeiten. Schon mikroskopisch fanden sich in den Präparaten aus dem spärlichen Sediment die typisch in Zellen gelagerten gramnegativen Diplokokken. Zur kulturellen Züchtung wurde die klar zentrifugierte Lumbalflüssigkeit im Verhältnis 1:3 mit flüssigem, auf 40° abgekühlten Agar versetzt und der so gewonnene, menschliches Eiweiß enthaltende Nährboden ebenso wie eine Reihe von Löfflerserumplatten mit dem Sediment beimpft. Nach 20 stündiger Bebrütung waren auf beiden Nährböden typische Kolonien in reichlicher Anzahl gewachsen, die von einem aus dem K. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin bezogenen hochwertigen Meningokokkenimmenserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurden.

Bei den übrigen fünf kulturell zu prüfenden Untersuchungstoffen, vier Rachen- bzw. Nasenhöhlenabstrichen und einem Sputum, gelang der Nachweis von Meningokokken nicht. Auch zwei Blutproben ergaben negatives Resultat, indem sichere Meningokokkenstämme durch sie in keiner Weise agglutinatorisch beeinflußt wurden.

Die Erreger der Gonorrhöe konnten in 27 Harnröhren- bzw. Scheiden- oder Zervixsekreten elfmal — somit in 40% — und einmal in einem Ausstrich von Eiter aus dem Konjunktivalsack durch mikroskopische Untersuchung der nach Gram gefärbten Präparate vorgefunden werden. In sechs Urinproben gelang der Nachweis nur einmal = 16%. Zwei der mikroskopisch negativen Urinproben waren auch kulturell zu untersuchen, doch blieb der Erfolg hierbei ebenfalls aus.

Behufs Anstellung der Wassermannschen Reaktion auf Syphilis wurden 182 Blutproben zur Einsendung gebracht. Die Untersuchungstechnik war die im Wassermannschen Laboratorium übliche. Als Antigen kamen für jedes zu untersuchende Serum zwei verschiedene Extrakte in Anwendung: ein zumeist von der Firma Gans in Frankfurt a. M. bezogener Extrakt aus luetischen Organen und ein anderer aus normalen Meerschweinchenherzen. Ersterer lieferte in recht vielen Fällen bessere Resultate.

Das Komplement wurde durch Herzpunktion von Meerschweinchen gewonnen, ein Verfahren, welches bei richtiger Handhabung an ein und demselben Tier recht oft ohne Schädigung wiederholt werden kann, so daß der Tierversbrauch ein relativ geringer ist. Die Herstellung des hämolytischen Ambozeptors wurde in der Anstalt durch entsprechende Vorbehandlung von Kaninchen bewerkstelligt.

Von den 182 untersuchten Blutproben zeigten 77, somit 42%, positive Reaktion.

Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß es sich in vielen Fällen um klinisch latente Lues und um Nachuntersuchungen von bereits in spezifischer Behandlung stehenden Patienten handelte. Genauere Zahlen können in diesem Falle wegen der meist unvollständigen Ausfüllung der Antragszettel durch die Ärzte kaum gegeben werden.

Vier Sekretproben waren zwecks Nachweises der *Spirochaeta pallida* eingesandt. Der Befund war in allen Fällen ein negativer. Zur Färbung der stets für diese Zwecke sehr unvorteilhaft von den Einsendern angefertigten Ausstriche wurde das Giemsa'sche Verfahren in Anwendung gebracht.

Ein auf *Febris recurrens* zu untersuchender Blutausschnitt enthielt keine *Spirochaeten*. Dagegen gelang es bei zwei auf Malaria zu prüfenden Blutausschnitten, einmal die Erreger des Quartanfiebers mit Hilfe der Manson'schen bzw. Giemsa'schen Färbung zur Darstellung zu bringen.

Bei einer zur Bestimmung eingesandten Bakterienkultur, die von einem Arzt aus dem Eiter eines Abszesses in der Leistengegend gezüchtet worden war, handelte es sich dem morphologisch-färberisch und kulturell-biologischem Verhalten nach um ein zur Coligruppe gehöriges Stäbchen.

Im Juni nahm der Berichterstatter, einem Antrag des Stadtmagistrates Bad Kissingen Folge leistend, die Prüfung der dortselbst neu eingerichteten Desinfektionsanlage vor. Es handelte sich um einen von der Firma Apparaten-Bauanstalt Weimar, Akt.-Ges., gelieferten „Vakuum-Dampfdüsen-Desinfektionsapparat“. Die Prüfung wurde mit Heubazillen von 5 Minuten Resistenz gegen strömenden Dampf, Staphylokokken von 3 Minuten Resistenz und Milzbrandsporen von 6 Minuten Resistenz vorgenommen. Die Testobjekte brachte man in Papier eingeschlagen in das Innere der zu desinfizierenden Gegenstände (Woldecken, Mäntel, Röcke, Hemden, Pelzkragen, Handschuhe, Schuhe, Brieftaschen usw.). Die Desinfektion wurde einmal mit Vakuum und Formaldehyddampf von 60° C (Dauer 50 Minuten), ein zweites Mal mit strömendem Wasserdampf über 100° C (Dauer 30 Minuten) vorgenommen. Das Ergebnis war, daß die eingelegten Bakterien und Bakteriensporen, wie eine elftägige Beobachtung der in Bouillon verbrachten Testobjekte zeigte, sämtlich abgetötet worden waren. Die Gegenstände kamen trocken aus dem Apparat heraus. Die Leder- und Pelzgegenstände hatten bei der Formalindesinfektion nicht gelitten. Der den Gegenständen anhaftende Formalingeruch war gering und verflüchtigte sich nach Zutritt frischer Luft vollständig.

Eine Reihe von Untersuchungen bezweckte endlich die Feststellung der Keimzahl in Trinkwässern. Für diese Untersuchungen wurde stets ein

nach der Vorschrift des Kais. Gesundheitsamtes (Anlage zu § 4 der „Grundsätze für die Reinigung von Oberflächenwasser durch Sandfiltration“) unter Verwendung von Fleischextrakt hergestellte Nährgelatine benutzt. Die gefundenen Keimzahlen waren bei mehreren der 13 Wasserproben recht hohe. — Während der Trockenperiode im August vorigen Jahres wurden im Leitungswasser der Stadt Schweinfurt kleine, flaumartige, schwimmende Flöckchen bemerkt, was zur Folge hatte, daß mehrere Einwohner das Trinkwasser als gesundheitsschädlich beanstandeten. Die Direktion des Wasserwerkes entschloß sich daher, eine bakteriologische Untersuchung vornehmen zu lassen. Die Proben wurden vom Berichterstatter an Ort und Stelle aus der Leitung entnommen. Die mikroskopische Betrachtung der in fast jedem Glas Wasser enthaltenen, mit unbewaffnetem Auge eben noch sichtbaren, grauen Partikelchen ließ die in gesundheitlicher Hinsicht harmlose *Crenothrix polyspora* erkennen. Die Keimzählung erwies das Wasser im übrigen als nahezu keimfrei, so daß auch in dieser Hinsicht Grund zur Beanstandung nicht gegeben war. Der Direktion des Wasserwerkes wurde lediglich angeraten, das Leitungsnetz durchzuspülen, um den Keim nach Möglichkeit zu entfernen und so die Gefahr einer Verstopfung der Leitung zu beseitigen. — Bemerkte sei schließlich noch, daß der Stadtmagistrat Würzburg auf Antrag des Amtsarztes seit Oktober vorigen Jahres zwei der städtischen Wasserwerke einer ständigen (monatlichen bzw. halbjährigen) bakteriologischen Kontrolle durch die Untersuchungsanstalt unterwirft. Das dritte Werk soll nur dann einer Prüfung unterzogen werden, wenn es infolge gesteigerten Wasserverbrauchs in Benutzung genommen werden muß.

Auf den Rest der in vorangestellter Zusammenstellung aufgeführten Untersuchungen näher einzugehen, dürfte sich erübrigen. Chemische Harnuntersuchungen gehören nicht zu den Aufgaben einer bakteriologischen Untersuchungsanstalt. Sie wurden indes ausgeführt, um das einmal zur Einsendung gebrachte Material nicht verloren gehen zu lassen.

Druck von R. Oldenbourg in München.

R. Oldenbourg, Verlagsbuchhandlung



in München NW. 2 und Berlin W. 10.

Soeben erschienen:

Entwicklungsgeschichte Bayerns

von M. Döberl, Professor an der Universität München.

Zweiter Band:

Vom Westfälischen Frieden bis zum Tode König Maximilian I.

Erste und zweite Auflage. VIII und 496 Seiten gr. 8^o.

Preis geheftet M. 11.50, in Leinen geb. M. 12.50, in Halbfranz geb. M. 13.20.

Über die Bedeutung dieses Werkes, dessen erster Band bereits in zweiter Auflage vorliegt, brauchen angesichts der geradezu glänzenden Aufnahme, die dieser bei Publikum und Presse gefunden, keine Worte verloren werden. Womöglich noch höheres Interesse dürfte dem zweiten Bande entgegengebracht werden, behandelt er doch einen an weittragenden und wechselfollen Ereignissen so ungemein reichen Zeitabschnitt bayerischer Geschichte, der in dieser ausführlichen, auf strenger Wissenschaftlichkeit beruhenden Form überhaupt noch nicht zur Darstellung gebracht wurde. In geschlossenem, großzügigem Aufbau und in meisterhafter Sprache bietet der Verfasser eine überaus anregende, eingehende, jedoch nie an Einzelheiten haftende Schilderung des Entwicklungsganges Bayerns in der Zeit vom Ende des Dreißigjährigen Krieges bis zu den Anfängen des bayerischen Verfassungslebens unter Maximilian I.; er zeichnet die bayerische Geschichte im Rahmen der deutschen und allgemeinen Entwicklung, in dem Bestreben, die bayerische Territorialgeschichte zu einer Geschichte der deutschen Entwicklung auf dem Boden des engeren Vaterlandes auszubauen. Leicht verständlich erzählend vermittelt das Werk eine tiefe Kenntnis des inneren Werdens Bayerns, besonders der Entwicklung des Staatslebens, der Rechtszustände und der kulturellen Bewegungen jener Zeiten, aber auch der verschlungenen Wechselgänge bayerischer Politik, die in alle damaligen Kulturstaaten und nur zu oft über blutige Schlachtfelder führten.

Das Werk ist mit seiner Anlage und seiner Sprache in hervorragendem Maße berufen, für jeden Gebildeten „die“ Geschichte Bayerns zu werden.

Entwicklungsgeschichte Bayerns

von M. Döberl, Professor an der Universität München.

Erster Band:

Von den ältesten Zeiten bis zum Westfälischen Frieden.

Zweite Auflage. X u. 624 Seiten gr. 8^o. Preis brosch. M. 12.50, geb. M. 14.—.

Die Presse urteilt:

... Man freut sich, endlich eine prächtige Geschichte des Anteils Bayerns an der Kultur zu besitzen
(*Allgemeine Zeitung.*)

... der Eindruck desselben als eines geschlossenen Ganzen ist ein tiefgehender Meisterhaft ist auch die Sprache. Ruhig, klar und anmutend fließt die Erzählung dahin, stellenweise schwingt die Darstellung sich zu künstlerischer Schönheit auf.
(*Mitteilungen aus der historischen Literatur.*)

Zu beziehen durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag.

Verlag von R. Oldenbourg, München NW. 2 und Berlin W. 10.

Vor kurzem erschien:

Die Kultur des modernen England in Einzeldarstellungen

Herausgegeben mit
Unterstützung des deutsch-englischen Verständigungskomitees

von

Dr. Ernst Sieper

a. o. Professor der englischen Philologie an der Universität München.

Die Sammlung soll ein erschöpfendes Bild geben von dem Kulturwert Englands auf dem Gebiete des staatlichen, wirtschaftlichen, geistigen, literarischen und künstlerischen Lebens. Sie sucht damit eine Aufgabe zu erfüllen, die seit langer Zeit als ein erstrebenswertes Ziel der deutschen Wissenschaft bezeichnet wurde, nämlich über die vorbildlichen Züge des englischen Kulturlebens eine ausgiebige Kenntnis in Deutschland zu verbreiten.

1. Band:

Die geistige Hebung der Volksmassen in England. Von Dr. Ernst Schultze, Hamburg. XI und 177 Seiten 8°, Preis geb. M. 4.—.

2. Band:

Volksbildung und Volkswohlfahrt in England. Von Dr. Ernst Schultze, Hamburg. XII und 205 Seiten 8°, Preis geb. M. 4.50.

3. Band:

Die Gartenstadtbewegung in England, ihre Entwicklung und ihr jetziger Stand. Von Architekt Berlepsch-Valendàs, München. XII und 190 Seiten 8° mit 10 Textabbildungen und 19 Tafeln, Preis gebunden M. 4.50.

4. Band:

Der Prae-Raphaelitismus in England. Von Prof. Dr. H. W. Singer. VIII und 126 Seiten 8° mit 12 Vollbildern, Preis gebunden M. 3.75.

In Vorbereitung befindliche Bände: *Englisches Unterrichtswesen* von Schulrat Dr. Kerschensteiner, M. d. R. — *Das englische Theater der Gegenwart, seine Organisation, Bühnenkunst und Literatur* von Dr. E. Stahl. — *Regierungsweise und politisches Leben in England* von Professor Dr. Hatschek. — *Die Hauptströmungen in der modernen englischen Literatur* von Prof. Dr. Fr. Brie. — *Die Presse und die öffentliche Meinung.* — *England als Kolonialmacht.* — *Die englischen Rechtsverhältnisse.* — *Geschichte der englischen Frauenbewegung.* — *Die soziale Frage in England u. a.*

