



Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

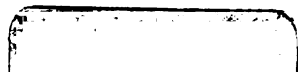
Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

UC-NRLF



B 3 789 144



15

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XXXV. Band.

Originale.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

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

Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

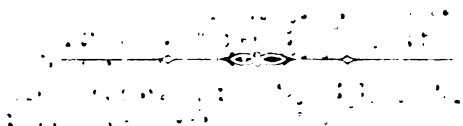
Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XXXV. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 15 Tafeln und 74 Abbildungen im Texte.



J e n a ,

Verlag von Gustav Fischer.
1904.

Digitized by Google

Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.)

Von Prof. Dr. C. **Eljkmán**.

II. Elastinlösende Enzyme.

In Band XXIX. No. 22 dieser Zeitschrift habe ich über Untersuchungen berichtet, wobei die „Diffusionsmethode“ mit Vorteil dazu verwendet wurde, um die Produktion von Enzymen durch Mikroorganismen darzuthun. Die Enzyme, welche damals Gegenstand der Untersuchung waren, ließen sich in vier Gruppen unterbringen, nämlich:

- 1) kaseinspaltende,
- 2) hämolytische,
- 3) amylolytische,
- 4) fettspaltende.

Seitdem habe ich die Diffusionsmethode auch auf andere Fälle anzuwenden versucht, und zwar mit abwechselndem Erfolg. Mit Cellulose war ich bis jetzt nicht glücklich. Aus einer Lösung in Kupferoxyd-Ammoniak durch Zusatz von verdünnter Salzsäure in feinen Flöckchen präzipitierte Cellulose wurde nach wiederholtem Auswaschen und darauffolgender Sterilisierung in Agarnährboden verteilt. Auf diesem Kultursubstrat züchtete ich in Petri-Schalen aërob und anaërob eine große Anzahl von unterschiedenen Mikroorganismen. In keinem Falle aber gelang es, in der nächsten Umgebung der Kulturen eine deutliche Aufhellung oder anderweitige Aenderung im Aspekt des homogen trüben Substrats zu konstatieren. Ebensowenig zufriedenstellende Resultate erhielt ich mit Inulin, das in Pulverform zu Nähragar hinzugesetzt wurde. Auch hier traten, obwohl eine große Anzahl von Kulturen daraufhin geprüft wurde, keine augenfälligen Veränderungen in der homogen trüben Agarplatte auf. Auch mit Keratin (in Form feinpulverisierter Nagelsubstanz) war das Resultat bis jetzt ein negatives. Ebensowenig gelang es, Bakterien auflösende Enzyme mittels der Diffusionsmethode nachzuweisen. Dahingegen habe ich positive Ergebnisse zu verzeichnen mit Bezug auf Elastin.

Feingschnittene Kalbslunge wurde tagelang bei 37° abwechselnd mit verdünnter Kalilauge und verdünnter Essigsäure digeriert, danach mit Wasser ausgewaschen, getrocknet und zu feinem Pulver verrieben. Dieses Pulver, das mikroskopisch hauptsächlich aus zerstückelten elastischen Fasern bestand, wurde in wässriger Suspension durch diskontinuierliche Erhitzung auf 90° sterilisiert. Nachdem durch ruhiges Stehenlassen die gröberen Partikelchen sich zu Boden gesetzt haben, wird die obenstehende, homogentrübe Flüssigkeit abgossen und mit geschmolzenem Nähragar vermischt.

Ganz die gleichen Resultate, wie mit Lungenagar, wurden erhalten mit Nähragar, worin fein zerriebener Neckband oder auch Arterienwand verteilt war. Nur muß, um eine Zusammenballung der Partikelchen zu verhindern, die Sterilisierung bei noch niedrigerer Temperatur, bei etwa 80°, geschehen.

Von den Kulturen aus dem Vorrat des hygienischen Instituts war es vor allen die des *Bac. pyocyaneus*, die eine deutliche Aufhellung zum Vorschein brachte. Bei Kultivierung auf Lungenagarplatte bei 37° bildet derselbe schon nach 24 Stunden einen 3 bis 4 mm breiten, scharf sich gegen die Umgebung abhebenden Aufhellungshof um sich herum, der nach nochmaligen 24 Stunden fast die doppelte Breite einnimmt. Daß es sich hier um eine wirkliche Auflösung der Lungenpartikelchen handelt, läßt sich leicht durch Besichtigung bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop feststellen.

Das keimfreie Filtrat einer Bouillonkultur von *Bac. pyocyaneus* ist ebenso imstande, die elastischen Fasern der Lunge aufzulösen. Schwach saure Reaktion beeinträchtigt die auflösende Wirkung nicht wesentlich, Erhitzung auf 80° hebt sie vollständig auf, was also für eine Enzymwirkung spricht.

Von mehreren anderen daraufhin untersuchten Kulturen aus unserem Vorrat ergaben nur noch einzelne eine mehr oder weniger deutliche Aufhellung des Lungenagars, nämlich *B. fluorescens liquefaciens* (schwach), *B. anthracis* (schwach) und *B. anthracoides* (ziemlich stark).

Dahingegen war das Resultat ein negatives bei: *B. typhi*, *B. coli communis*, *B. pseudotubercul.* (Rabinowitsch), *B. mallei*, *B. diphtheriae* und von den Gelatine verflüssigenden Mikroorganismen bei *B. prodigiosus*, *B. indicus*, *B. megatherium*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus pyogen. aureus*, *Vibrio cholerae*, *V. Metchnikowi* und *V. ultrajecti i* (einem choleraähnlichen Wasservibrio).

Außerdem wurde eine große Anzahl Bakterien aus Luft, Wasser, Kot u. a. auf Lungenagar gezüchtet. Die Ernte an elastinlösenden Mikroorganismen war nur spärlich. Im ganzen bekam ich fünf aufhellende Bakterienkulturen, darunter aus Luft einen zitrongelben Coccus und ein bewegliches, sporenbildendes Stäbchen, dessen Oberflächenkultur die Eigentümlichkeit zeigt, sich stark in dendritischen Verzweigungen auszubreiten. Auch einige nicht näher zu beschreibende Schimmelpilze wurden aufgefunden, welche eine Aufhellung des Elastinagars zu Wege bringen.

Von Bakterien, die ungefähr so stark aufhellend wirken wie *B. pyocyaneus*, fand sich nur ein einziges Beispiel, und zwar im „effluent“ einer Probeinstallation für biologische Reinigung von Abwässern.

Es handelt sich um ein ziemlich kurzes und feines, sehr bewegliches, gelatineverflüssigendes Stäbchen, das nach Gram nicht färbbar ist. Die Kultur auf der Agarplatte bildet einen schleimig-feuchten, grauweißen Belag, der ebenso wie der Nährboden selber nach Verlauf von einiger Zeit eine braune Farbe annimmt. Wächst kräftig sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur, weit besser aber aerob als anaerob. In Peptonbouillon findet keine nachweisbare Bildung von Schwefelwasserstoff oder Indol statt. Mittels der Diffusionsmethode läßt sich die Produktion eines lipolytischen und eines amylolytischen Enzyms nachweisen. In Traubenzuckergelatine findet schwache Gasbildung statt.

Die Kultur in Milch bei 22° zeigt nach 24 Stunden Kaseingerinnung bei amphoterer Reaktion; nach weiteren 3–4 Tagen wird das Kasein wieder vollständig gelöst, die Milch nimmt schwach alkalische Reaktion an und riecht nach Bouillon. In geringem Grade findet hierbei Produktion von Schwefelwasserstoff statt.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

In einem Falle von Lungengangrän züchtete ich aus den Sputis ein morphologisch dem Typhusbacillus ähnliches, aber gelatineverflüssigendes Stäbchen (*Lg*₁), welches auf Lungenagar schwache, aber ausgebreitete

Aufhellung bewirkte. Aus der gangränösen Lunge selber hatte ich späterhin noch Gelegenheit, ein subtilisähnliches, elastinlösendes Stäbchen (L_2) zu isolieren.

Ich lasse die genauere Beschreibung dieser Mikroorganismen hier vollständigshalber folgen:

L_2 . Bewegliches Stäbchen, nach Gram nicht färbbar. Gelatine verflüssigend. Bildet auf der Agarplatte runde, feuchtglänzende, halb durchscheinende Kolonien von anfangs weißlichgrauer, später einen Stich ins Rotbräunliche zeigender Farbe, während auch der Nährboden braun verfärbt wird. Wächst an der Luft kräftig sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur, zeigt aber anaërob gezüchtet nur spärliches Wachstum. Traubenzucker wird nicht vergoren, Stärke nicht gelöst, Fett nicht gespalten. In Peptonbouillon findet kräftige Schwefelwasserstoffentwicklung statt; Indolbildung ist nicht nachweisbar. Milch wird ohne Säurebildung zur Gerinnung gebracht; es folgt später Wiederauflösung des Kaseins bei zunehmender alkalischer Reaktion und unter lebhafter Schwefelwasserstoffproduktion.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Der Bacillus zeigte sich bei subkutaner und bei intrapulmonaler Impfung nicht pathogen für Caviae.

L_2 . Subtilisähnliches, bewegliches, gelatineverflüssigendes Stäbchen, welches mittelständige Sporen bildet. Die Färbbarkeit nach Gram ist nicht bei allen Individuen die gleiche; die meisten bleiben gefärbt, nicht wenige aber werden entfärbt. Der Bacillus ist obligat aërob, bildet auf Agar einen glänzenden, milchweißen Belag mit zackigen Rändern; kräftiges Wachstum sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur. Er produziert ein lipolytisches, aber kein amylolytisches Enzym. In Traubenzuckergelatine findet Gasbildung statt. In Peptonbouillon wird keine Schwefelwasserstoff- und keine Indolbildung beobachtet. Milch wird erst nach einigen Tagen bei amphoterer Reaktion zur Gerinnung gebracht.

Der Bacillus ist nicht pathogen für Meerschweinchen.

Was die naheliegende Frage anbetrifft, ob es die peptonisierenden Enzyme der Mikroorganismen sind, welche die Elastinlösung bewirken — wie ja auch Pepsin dazu im stande ist — so spricht zwar zunächst die Tatsache dafür, daß alle unsere elastinlösenden Kulturen zu den gelatineverflüssigenden gehören. Das Umgekehrte trifft aber nicht zu, denn, wie schon erwähnt, gibt es eine Reihe von peptonisierenden Bakterien, die dennoch auf Lungenagar keine aufhellende Fernwirkung zeigen.

Bei der Untersuchung mittels der früher schon beschriebenen Methode des Gelatinstreifens¹⁾ ergab sich für *Bac. pyocyaneus* eine genaue Uebereinstimmung im Ausbreitungsgebiete der Elastinaufhellung und dem der Gelatineverflüssigung. In vielen anderen Fällen war aber die letztere weiter nach der Peripherie fortgeschritten als die erstere.

Auf der einen Seite spricht also mehreres dagegen, daß die tryptischen Enzyme immer mit den elastinlösenden identisch seien. Andererseits aber ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die von den verschiedenen Mikrobenarten produzierten tryptischen Enzyme unter sich verschieden sind, und daß deren einige das Elastin zu lösen vermögen, andere dahingegen nicht. Die Inkongruenz in den Ausbreitungsgebieten der Elastinaufhellung und der Gelatineverflüssigung fände dann vielleicht hierin ihre Erklärung, daß die Gelatine von den betreffenden Enzymen schneller gelöst wird als die Elastinpartikelchen.

1) a. a. O. p. 844.

Nachdruck verboten.

Zur Frage vom Verhalten verschiedener Gewebe des tierischen Organismus gegen das Tetanusgift

[Aus dem Laboratorium der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.]

Von Dr. A. Ignatowsky aus St. Petersburg.

I.

Einleitung.

Das Tetanusgift wird, wie alle anderen Gifte, von der Infektionspforte aus hauptsächlich durch die Cirkulation über den ganzen Organismus, über alle Gewebe verbreitet. Der Organismus bleibt gegenüber dem kreisenden Gift nicht indifferent, sondern wirkt ihm in verschiedener Weise entgegen. Unsere Therapie wird nur dann rationell sein, wenn wir einen genauen Einblick in die Wechselwirkung zwischen Gift und Zelle gewonnen haben werden. Freilich ist das Studium dieser Frage sehr schwer und kompliziert. Einer Anregung Dr. Blumenthals (1) folgend, unternahm ich es, die einzelnen Organe des tierischen Organismus hinsichtlich ihrer Fähigkeit, dem Tetanusgift entgegenzuwirken, zu vergleichen, zuerst *in vitro*, sodann im Organismus selbst. Die Resultate meiner Untersuchungen habe ich in nachfolgender Arbeit niedergelegt. Aus der einschlägigen Literatur habe ich darin nur die wichtigsten Erscheinungen berücksichtigt.

Die Annahme, daß das Tetanusgift im kranken Organismus eine Bindung an die Zellen eingeht, wurde 1896 in einer Arbeit von Blumenthal betont und experimentell gestützt. Er untersuchte die Organe einer an Tetanus trotz Serumbehandlung gestorbenen Frau. Im Blut der Kranken fand er keine Spur von Gift, doch wies das Rückenmark Gift auf. Blumenthal schloß daraus, daß eine besondere Affinität des Giftes zur Rückenmarkssubstanz vorhanden sei, die das Antitoxin nicht oder schwer zu sprengen vermöge. Im Jahre 1898 veröffentlichten Wassermann und Takaki (2) ihre Beobachtungen, daß Gehirn und Rückenmark im emulgierten Zustand die Eigenschaft besäßen, das Tetanusgift zu neutralisieren. 1,0 g der Gehirnemulsion neutralisiert nach ihnen eine für Mäuse 10fach tödliche Dose von Tetanusgift. Die Wirkung des Gehirns äußert sich nach Wassermann nicht nur *in vitro*, sondern auch im Organismus. So gelang es ihm, mittels Injektionen von Gehirnschubstanz an Tetanus erkrankte Mäuse am Leben zu erhalten. Wenn wir in Betracht ziehen, daß die klinischen Symptome bei einer Tetanus-erkrankung vorzugsweise auf eine Affektion des Nervensystems hindeuten, so erlangt das Wassermannsche Phänomen noch größere Bedeutung. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Nervengewebe die Aufgabe übernimmt, das Gift nicht nur zu binden, sondern auch zu neutralisieren. Wir sehen bei Wassermann also eine vollkommene Uebereinstimmung mit der Theorie Ehrlichs, nach welcher jedes Toxin beim Eindringen in den Organismus vorwiegend auf einzelne Gewebe oder gewisse Zellkomplexe der Gewebe wirkt, sich mit ihnen verbindet und auf diesem Wege seine giftigen Eigenschaften äußert. Die Mitteilung Wassermanns und Takakis über die Rolle des Nervengewebes rief naturgemäß eine Reihe von Arbeiten (Ransom, Blumenthal, Metschnikoff, Marie, Asakawa, Knorr, Milchner, Danysz, Zupnik,

Besredka und andere) hervor. Wir müssen übrigens bemerken, daß fast alle Verfasser dieser Arbeiten ihre gesamte Aufmerksamkeit auf das Nervengewebe richteten; einerseits prüften sie die Resultate der Untersuchungen von Wassermann und Takaki auf ihre Richtigkeit, andererseits waren sie bestrebt, die Ursachen des Phänomens aufzuhellen. Gleichzeitig wurden Versuche in Angriff genommen, das Gehirn zu therapeutischen Zwecken zu benutzen, und sogar Fälle von erfolgreicher Behandlung mit Emulsion von Kaninchenhirn beschrieben (Krokiewicz [3], Drosdowski [4]). Was die Rolle der übrigen Gewebe und ihr Verhalten gegen das Tetanusgift betrifft, so muß gesagt werden, daß diese Frage nicht hinlänglich studiert wurde; man streifte sie leicht wie im Vorübergehen.

Wassermann und Takaki stellten den Satz auf, daß die wichtigsten Organe, mit Ausnahme des Nervensystems, *in vitro* absolut unfähig sind, das Tetanusgift unschädlich zu machen. Noch vor ihnen, im Jahre 1892, haben Fermi und Celli (5) beim Studium der Eigenschaften des Tetanusgiftes gefunden, daß das Blutserum und der Humor aqueus vom Rinde und Hunde, das Eiweiß, die frischen Filtrate vom Gehirn, Leber, Milz und Hoden des Hundes, sowie auch der Harn, die Galle und Fettstoffe (Oel) das Tetanusgift nicht im geringsten verändern. Bei der weiteren Uebersicht der einschlägigen Literatur werde ich mich nicht bei allen Arbeiten aufhalten, die das Verhalten des Nervengewebes gegen das Gehirn erörtern. Sie sind schon oft zitiert und in Monographien aufgenommen worden (v. Leyden — Blumenthal — Tetanus, v. Dungen — Antikörper). Ich erwähne nur die jüngst erschienenen Arbeiten, und aus ihrer Zahl nur diejenigen, welche sich mit der Wechselwirkung zwischen Tetanusgift und organischem Gewebe befassen.

A sakawa (6) vermengte verschiedene Organe von Huhn und Meerschweinchenhirn, Rückenmark, Leber, Milz, Muskeln mit einer physiologischen Kochsalzlösung im Verhältnis 1:3 und setzte diesen Emulsionen verschiedene Dosen Toxin zu. Die auf solche Weise präparierte Mischung wurde in verschiedenen Dosen Mäusen injiziert. A sakawa fand, daß nur das Gehirn und Rückenmark eine neutralisierende Wirkung ausübt. Im scheinbaren Widerspruch zu diesem Resultat stehen die auf der v. Leydenschen Klinik von A. Schütze (7) gewonnenen Ergebnisse. Letzterer vermischte geringe Dosen des Tetanusgiftes mit Organextrakten von Kaninchen. Die Mischung wurde Mäusen injiziert. Es erwies sich, daß Extrakte vom Gehirn, Lunge, Leber und Niere eines Kaninchen Substanzen enthalten, welche, wenn auch nicht konstant, so doch in einer Reihe von Fällen die Wirkung des Tetanusgiftes verstärken und den Ausbruch der Erkrankung beschleunigen (Verkürzung des Latenzstadiums). Obgleich Schütze das Vorkommen präformierten Antitoxins im Gehirn zugesteht, vertritt er auf Grund seiner Versuche die Ansicht, daß das Gehirnextrakt außerdem noch einen Stoff enthält, der die Wirkung des Tetanusgiftes erhöht. Diese Arbeit ist eine Stütze für die Ansicht von Blumenthal, welcher annimmt, daß durch Bindung des Tetanusgiftes an die Organzellen Substanzen entstehen, welche sich von dem ursprünglichen Gift mehr oder weniger unterscheiden. Er unterscheidet eine Bindung des Giftes an das präformierte Antitoxin, die für andere Tiere neutral ist und ferner Verbindungen mit Substanzen der Zelle, wobei ein Gift mit veränderter Wirkung (mehr klonische Krämpfe verursachend) entsteht.

In der letzten Zeit erschienen auch aus dem Institut Pasteur einige

Arbeiten, die sich mit der uns interessierenden Frage beschäftigten; von diesen Arbeiten erwähnen wir in erster Linie die von Besredka (8). Ich will mich nicht mit der Beschreibung der von Besredka angewandten Methode aufhalten und weise nur auf die Schlußfolgerungen hin, zu denen er auf Grund seiner Arbeiten gelangte: 1) Das Hirngewebe besitzt die Fähigkeit, das Tetanustoxin lediglich zu fixieren. Diese Fähigkeit darf als antitoxisch im wahren Sinne des Wortes nicht bezeichnet werden; 2) die Affinität zwischen Gehirn und Toxin ist nicht so ausgesprochen, wie die Affinität zwischen Toxin und seinem wahren Antitoxin. Das mit Tetanustoxin gesättigte Hirngewebe bewahrt seine ursprüngliche Intaktheit nach Einverleibung des wahren Antitoxins (wenn das Gift eine Verbindung mit dem Antitoxin eingeht). Das von Wassermann und Takaki beschriebene Phänomen beruht nicht auf dem Vorhandensein einer Substanz in dem Hirngewebe, die dem Antitoxin an Wirksamkeit gleiche, und deshalb kann dieses Phänomen nicht als Beweis für die Richtigkeit der Ehrlich'schen Theorie der Seitenketten gelten. Von ebenso großem Interesse ist für uns die Arbeit von Dr. Dmitrowsky (9), die gleichfalls aus Metschnikoffs Laboratorium hervorgegangen ist. Bei der Vergleichung des Gehirns eines normalen mit dem eines gegen Tetanus immunisierten Kaninchens fand Dmitrowsky folgendes: „Das Gehirn gegen Tetanus hinreichend immunisierter Tiere besitzt die Fähigkeit, das Tetanusgift zu neutralisieren, in weit höherem Grade, als das Gehirn normaler Tiere. Diese Erscheinungen beruhen jedoch nicht auf einer exceptionellen Eigenschaft des Hirngewebes. Wir haben uns den Vorgang so zu erklären, daß das Gehirn immunisierter Tiere mehr Blut enthält als das normaler, andererseits das Blut immunisierter Tiere mehr Antitetanotoxin aufweist, als das Gehirn solcher Tiere. Wenn demnach dem Gehirn immunisierter Tiere eine größere antitoxische Wirkung innewohnt, so ist dies nur in dem Maße der Fall, als das Blut des betreffenden Tieres mehr Antitoxin aufweist. Ferner übertrifft die Leber eines immunisierten Tieres an antitoxischer Wirkung das Gehirn.“

Im Gegensatz zu der üblichen Anschauung, nach welcher bei einer Intoxikation mit Tetanus die motorischen Zentren des Rückenmarkes und der Medulla oblongata am meisten zu leiden haben, haben v. Morax und A. Marie (10) nachgewiesen, daß alle drei Typen der peripheren Neurone — das motorische, sensible und der Sympathicus — für das Tetanusgift in gleichem Grad empfänglich sind. Auch dieses Ergebnis spricht nach Ansicht dieser Autoren nicht für die Richtigkeit der Ehrlich'schen Theorie. Einer recht eingehenden Kritik wird diese Frage in Metschnikoffs „L'immunité dans les maladies infectieuses“ unterzogen.

Wir erlauben uns noch auf die neuerdings erschienene Arbeit von Hans Meyer und Friedrich Ransom (11) hinzuweisen, die für die Therapie des Tetanus nicht ohne Bedeutung ist. Die Verfasser derselben gelangten auf experimentellem Wege zur Schlußfolgerung, daß das Gift auf seiner Wanderung im Nerven nicht durch die Lymphbahn geführt wird. Das Gift gelangt also in den Nerv nicht durch die kapillaren, sondern allein durch seine intramuskularen Endigungen. Das Gift muß also im Fibrillenplasma strömen. Da das Antitoxin im Nerv durch dieselbe Bahn geführt wird wie das Gift, so kann die therapeutische Wirkung des Antitoxins sich nur bessern, wenn letzteres in die Nerven- oder Rückenmarkssubstanz eingeführt wird.

Aus allen diesen Arbeiten geht hervor, daß die Beziehungen des Giftes zu den Gewebszellen von den verschiedenen Forschern verschieden aufgefaßt werden.

II.

Versuchsordnung.

Ich komme nunmehr zur Berichterstattung über meine eigenen Versuche. Die Experimente wurden zuerst *in vitro* angestellt. Die erste Serie meiner Versuche bezweckte die Aufklärung der Frage, ob alle wichtigen Organe im stande sind, das Tetanusgift zu binden oder ob zwischen ihnen in dieser Beziehung nicht ein Unterschied besteht. Zur Vermeidung von Mißverständnissen schicke ich voraus, daß ich unter dem Wort „binden“ nur die Fähigkeit der Gewebe verstehe, auf diese oder jene Weise das Gift an sich zu ziehen, ohne bis auf weiteres eine Erörterung ihrer Fähigkeit, das Gift zu neutralisieren, anzuknüpfen. Gemäß dem Vorschlag Dr. Blumenthals traf ich folgende Versuchsordnung, welche derjenigen Besredkas analog ist. Die Organe eines unmittelbar vorher getöteten Meerschweinchens, die man in einer physiologischen Kochsalzlösung jedes einzeln gewaschen hatte, wurden mit dem Skalpell zerkleinert. Darauf wurde jedes von ihnen mit einer frisch aus festem sporenfreien Gift bereiteten Toxinlösung in einem Porzellanmörser so lange verrieben, bis eine für die Injektion taugliche Emulsion hergestellt war. Es wurde aus dem festen Gift eine 10-proz. mit Toluol gesättigte Kochsalzlösung bereitet. Wir benutzten sie zur Auflösung des Toxins, wobei in der Regel ein Teil Toxin auf 100 Teile der beschriebenen Lösung genommen wurde. Die erhaltene Emulsion von Organsubstanz und Toxin wurde entweder sofort zentrifugiert oder vorher einige Stunden in Probierringläsern gehalten. Nach der Zentrifugierung wurde die Klärflüssigkeit abgegossen und zum Sediment sterilisierte physiologische Lösung hinzugesetzt, die Mischung durchgeschüttelt und aufs neue zentrifugiert. Dieses Aufschwemmen wurde 10 oder mehrmal wiederholt, zu den letzten 4–5 Malen benutzte man eine mit Toluol gesättigte physiologische Lösung. Die Flüssigkeit über dem Sediment nahm nach der Zentrifugierung allmählich ein klares und farbloses Aussehen an. Das letzte Schwemmwasser enthielt keinen Zusatz von Toluol. Die Flüssigkeit wurde nach der Zentrifugierung Mäusen eingespritzt. Vorgreifend bemerke ich schon jetzt, daß sie, in Dosen bis zu 1 g eingespritzt, bei Mäusen gewöhnlich keine Tetanussymptome hervorrief; die Mäuse blieben vollständig gesund. Das nach der letzten Zentrifugierung erhaltene Sediment, d. h. die Organsubstanz, wurde wiederum im Mörser mit sterilisierter physiologischer Lösung verrieben, zur Herstellung einer gleichmäßigen Emulsion. Diese Emulsion wurde durch Kanülen von gleichem Durchmesser in die Pravazsche Spritze eingeführt. Zur Untersuchung wurden zu gleicher Zeit Emulsionen von mehreren Organen genommen und in verschiedenen Dosen eingespritzt. Außerdem wurde zur Kontrolle und zur parallelen Vergleichung der Erscheinungsformen des Tetanus einige Mäuse mit einer reinen Toxinlösung vergiftet und zwar wurde letztere in gleichen Dosen eingepfimpft, wie die Emulsionen. Auf diese Weise gebrauchte ich zu jeder Untersuchung gleichzeitig eine Partie von 18–20 Mäusen. Die Injektionen wurden immer subkutan appliziert. Die Untersuchungen wurden angestellt an 1) Gehirn, 2) Rückenmark, 3) Lunge, 4) Leber, 5) Milz, 6) Niere, 7) Muskel.

III.

Die Giftigkeit normaler Organe.

Bei der von uns angewandten Untersuchungsmethode müssen wir, wenn wir den Mäusen Emulsionen von verschiedenen Organen injizieren, uns vor allen Dingen darüber Klarheit verschaffen, ob nicht diese Organe an und für sich für Mäuse dermaßen giftig seien, daß dadurch die Untersuchung mit Toxin in den Hintergrund gerückt wurde. Die Lösung dieser Frage schien mir um so wichtiger, als sie von Marie in seiner Arbeit bekanntlich bejaht wird. A. Marie (12) präparierte Extrakte von Rückenmark, Hoden, Leber, Milz und Niere von Kaninchen, sowohl gesunden als auch an Tetanus verendeten. Diese Extrakte spritzte er in Dosen bis 1 g Mäusen ein, um die Wirkung der Organe von gesunden und kranken Kaninchen zu vergleichen. Es erwies sich, daß Tiere aus beiden Gruppen (d. h. solche, denen Organemulsion von kranken, und solche, denen Organemulsion von gesunden Kaninchen injiziert worden war) unter vollkommen gleichartigen Erscheinungen starben, die an das typische Tetanuskrankheitsbild in keiner Weise gemahnten. Auch Roger (13) fand, daß die wässerigen Auszüge von normalen Organen bei Injektion ins Blut von Kaninchen giftig wirken (für die Leber 12–14 g auf 1 kg Körpergewicht). Freilich könnte man andererseits eine Reihe von Arbeiten anderer Autoren anführen, die nach derselben Methode verfahren sind, gleichwohl aber die Giftigkeit der Organsubstanz viel niedriger schätzten. Nach Kondratjeff (14) kann man bei intraperitonealen Injektionen ohne Gefahr 50 g Extrakt auf 1 kg Körpergewicht nehmen. Noch größere Dosen (bis zu 1 g und mehr) halten nachstehende Autoren für Mäuse für zulässig: Blumenthal (15), Milchner (16), Schütze (17), Tauber (18), Teissier u. Frenkel (19) (Nierenextrakt), Mairet u. Vires (20) (Extrakt von Leber), Foà und Pellaconi (Prüfung der Giftigkeit fast aller Organe des menschlichen Körpers) und andere.

In Anbetracht dessen, daß die Herstellungsmethoden der Extrakte oder deren Emulsionen oder deren Konzentrationen sehr verschiedenartig sein können, beschloß ich, entsprechende Versuche von normalen Organen (Leber, Niere, Muskel) anzustellen. In Dosen von 1,0 g und weniger spritzte ich nach der oben beschriebenen Methode hergestellte Emulsionen von Kaninchen- und Meerschweinchenorganen Mäusen unter die Haut. Auf Grund dieser Versuche kann ich mit Bestimmtheit behaupten, daß normale Organe in Dosen bis 0,7 bei Mäusen, die nicht weniger als 10 g wiegen, keinerlei ernste Erkrankungen hervorrufen. In den Fällen, wo allzu große Dosen von Emulsionen injiziert oder zu kleine Mäuse zu Versuchszwecken benutzt wurden, hatte die Organsubstanz toxische Wirkung. Gewöhnlich verendeten die Mäuse unter Anzeichen einer allgemeinen Schwäche im komatösen Zustand. Es sah aus, als ob sie einschliefen. Nicht selten bemerkte man bei ihnen heftige Atemnot. Seltener waren klonische Zuckungen oder Lähmung der unteren Extremität wahrzunehmen. Kein einziges Mal war ich Zeuge der charakteristischen tetanischen Verkrümmung der Wirbelsäule oder tonischer Krämpfe. Die Symptome der Vergiftung mit Organsubstanz unterscheiden sich also strikt von den typischen Symptomen der Intoxikation mit Tetanotoxin. Indessen muß gesagt werden, daß beim Arbeiten mit Organauszügen von Tieren, die mit Tetanusgift vergiftet waren, in erster Linie sich die Symptome

einer allgemeinen Vergiftung zeigen, wenn zur Injektion sehr große Dosen benutzt werden. Die tetanischen Krämpfe werden häufig von klonischen abgelöst. Die Verkrümmung der Wirbelsäule tritt nicht deutlich hervor. Beständige Begleiterscheinung ist Atemnot, häufig tritt Lähmung der unteren Extremität dazu.

Schon früher berichteten wir, daß die Emulsionen von einzelnen Organen sorgfältig und mehrere Male mit einer physiologischen Lösung geschwemmt wurden. Bei einer solchen Präparation wurde jedesmal gleich mit der Schwemmflüssigkeit ein Teil des Toxins entfernt, der Giftgehalt der Schwemmflüssigkeit wurde nach und nach geringer, die letzte Schwemmflüssigkeit enthielt absolut kein Toxin, was mittels Kontrollinjektionen nachgewiesen wurde.

Nun entsteht die Frage, ob die Organsubstanz nach der letzten Aufschwemmung im stande sein würde, bei Mäusen Tetanus zu erregen oder nicht. Bereits die ersten subkutanen Injektionen hatten zur Folge, daß die Mäuse, sämtlich ohne Ausnahme, nach Ablauf einer Inkubationsperiode (15—20 g) an Tetanus erkrankten, und zwar in charakteristischer Form. An allen Mäusen konnten dieselben tetanischen Erscheinungen wahrgenommen werden, wie bei den Kontrollmäusen, denen eine reine Gifflösung injiziert worden war. (Ich bemerke ausdrücklich, daß das Tetanustgift in derselben Lösung eingeführt wurde, welche ich zur Herstellung der Emulsion benutzt hatte, und in denselben Dosen, wie die Emulsion.) Wir schließen daraus, daß wir durch Abschwemmen der Organsubstanz nur einen Teil des Giftes, man könnte sagen, dessen Ueberschuß zu entfernen im stande sind, der andere, recht beträchtliche Teil in der Verbindung mit der Organsubstanz bleibt und auf dem Wege gewöhnlicher Schwemmung nicht entfernt werden kann. Diese Erscheinung wurde schon früher von einigen Autoren bemerkt und näher beschrieben (Blumenthal, Milchner, Besredka) doch ausschließlich mit Berücksichtigung des Nervengewebes. Von außerordentlicher Wichtigkeit ist es, den Faden dieser Untersuchungen aufzunehmen und zu prüfen, ob allen Organen die giftbindende Wirkung in gleichem Grade innewohnt oder nicht. Zu diesem Behuf stellte ich Versuche an einigen Organen zu gleicher Zeit an.

Ich halte es nicht für angängig, hier die Protokolle von allen Versuchen wiederzugeben, es dürfte das der Abhandlung einen Umfang geben, der sie für den Druck ungeeignet erscheinen ließe. Ich bringe hier nur die folgende Tabelle No. 1, nach der es nicht schwierig sein wird, Vergleiche anzustellen.

Zur Erläuterung dieser Tabelle sei folgendes gesagt: Im einzelnen Versuch wurde jede Organsubstanz 2—3 Mäusen injiziert. Auf diese Weise stellen die Ziffern, welche angeben, wieviel Stunden von der Injektion bis zum Tode des Tieres verstrichen, das Mittel von 2 oder 3 Ziffern vor. Wenn das Tier in der Nacht starb, so daß es am nächsten Morgen zwischen 8—9 tot aufgefunden wurde, nahm ich bei der Berechnung der Zeit an, daß es um Mitternacht verendet sei. Aus der vorstehenden Tabelle dürfen wir folgende Schlüsse ziehen: Alle von uns untersuchten Organe haben ausnahmslos die Fähigkeit, in vitro Tetanustgift zu binden. Jedoch besteht hinsichtlich der Toxicität ein Unterschied zwischen den Emulsionen der verschiedenen Organsubstanz mit dem Gift. Die geringste toxische Wirkung besitzt die mit Gift vermischte Hirnsubstanz dann in aufsteigender Folge: Milz (1. Versuch), Muskelsubstanz, Leber, Rückenmark, schließlich ohne erhebliche Differenz Niere und Lunge.

Tabelle No. 1.
Lebensdauer nach der Injektion in Stunden.

No.	Organe von	Quantität der injizierten Emulsion in Kubikcentimeter	Bemerkungen	Gift		Emulsion T.-Rückenmark	Emulsion T.-Leber	Emulsion T.-Niere	Emulsion T.-Lunge	Emulsion T.-Milz	Emulsion T.-Muskel
				Emulsion T.-Gehirn	Emulsion T.-Gehirn						
1	Meerschweinchen	0,5		21	48	—	24	—	—	—	—
2	do.	0,5		12	20	—	34	38	32	—	—
3	do.	0,4		—	—	—	—	33	—	—	36
4 (1)	do.	0,3		21	51	—	36	—	—	—	—
5 (3)	do.	0,2		—	—	—	—	66	—	—	72
6	do.	0,2	kleine Mäuse	17	75	—	36	36	36	—	—
7	Kaninchen	0,2		—	72	39	48	36	—	—	—
8	Meerschweinchen	0,1		36	96	70	69	64	—	—	—
9	do.	0,1		36	174	76	148	60	—	—	—
10	Kaninchen	0,1	Emuls. war mit physiol. Lösung verdünnt 1:3	—	68	37	48	—	—	80	56
11	Huhn Meer-schweinchen	0,05	Ver-gleichende Versuche	132	—	116	—	—	—	—	—
				150	80	136	288	—	—	298	

T.-Gehirn = Tetanusgift + Gehirnbrei.

Ich halte es für notwendig zu erklären, daß ich bei dieser Bestimmung der Toxicität der Organe nicht nur die ermittelten Zahlengrößen in Betracht zog, sondern auch die Dauer der Inkubationsperiode und den Verlauf der Krankheit. Besonders hervorheben möchte ich die Toxicitätsdifferenz zwischen Gehirn und Rückenmark. Ferner scheint mir der Versuch No. 10 besondere Beachtung zu verdienen. In diesem Versuche wurde die Organemulsion beträchtlich verdünnt. Wir nahmen einen Teil der Emulsion auf 3 Teile der physiologischen Lösung. Dieser Umstand war, wie es schien, von großer Bedeutung, da alle mit dieser Emulsion injizierten Tiere rascher zu Grunde gingen als die Versuchstiere bei ähnlichen Versuchen. Außerst wichtig ist der Versuch No. 11. Hier wurden nämlich parallele Versuche angestellt, und zwar mit einigen Organen von Meerschweinchen, einem für Tetanus sehr empfänglichen Tiere, und mit denselben Organen vom Huhne, einem für Tetanus höchst empfänglichen Tiere. Es erwies sich, daß Mäuse, denen Organsubstanz vom Huhne injiziert wurde, viel rascher zu Grunde gingen als die Mäuse, denen das Gift in Bindung mit Organsubstanz vom Meerschweinchen eingeführt worden war.

IV.

Die Wirkung des Antitoxinserums und des Nervengewebes auf E.T.-Organ¹⁾.

Zur Aufklärung der Beziehung des Antitoxins zu dem in den Organen gefundenen Tetanusgift wurden 2 Versuche angestellt, die gleiche Resultate ergaben. Einen derselben haben wir im Protokolle angeführt (Tabelle No. 2). Aus der Tabelle können wir folgende Schlüsse ziehen. Wenn wir in Agglutinationsröhrchen eine Mischung von E.T.-Organ und

1) E.T.-Organ = Organemulsion + Toxin.

Antitoxinserum herstellen, sie einige Zeit stehen lassen und diese Mischung dann Mäusen injizieren, so bleiben dieselben gesund. Die Menge des Serums ist in diesem Falle nach ihrer Immunitätseinheit im stande, eine annähernd 100-fache Dose unserer Giftlösung (1:400) zu neutralisieren. Natürlicherweise enthält ein vielmals geschwemmtes E.T.-Organ eine viel geringere Giftmenge. Bei einer derartigen Modifikation des Versuches, nämlich wenn wir die Mischung von E.T.-Organ und Serum den Mäusen nicht sofort injizieren, sondern vorher zentrifugieren und abschwemmen, um den Ueberschuß von Antitoxin zu entfernen (die letzte Schwemmflüssigkeit darf eine 2-fach tödliche Dose des Giftes nicht neutralisieren), ergibt sich folgendes: Die antitoxische Wirkung des Serums zeigt sich unzweifelhaft, doch ist sie nicht so ausgesprochen wie im ersten Fall. Obgleich das Serum die Fähigkeit, das Gift im Gewebe zu neutralisieren, besitzt, ist die Wirkung offenbar eine beschränkte.

Zu gleicher Zeit traf ich die Anstalten zu folgendem Versuch. Einer Serie von Mäusen wurde Antitoxin injiziert, 3 Stunden später E.T.-Niere. Obgleich das Antitoxin in vitro eine 100—200mal größere Quantität Gift neutralisieren konnte als im E.T.-Organ enthalten war, erwies sich eine neutralisierende Wirkung bei diesem Versuch als sehr beschränkt: Von 4 Mäusen gingen 2 an Tetanus zu Grunde; eine erkrankte, blieb jedoch am Leben.

Aus derselben Tabelle ist ersichtlich, daß Gehirns substanz bei seiner Verwendung als Heilserum in diesem Falle sich als total unwirksam erwies. Um genauere Kenntnis von der Wirkung des Nervengewebes auf das im Organ gefundene Gift zu erlangen, stellte ich folgende Versuche an (siehe Tabelle No. 3). Diese Versuche erhalten besonderes Interesse dadurch, daß im Versuch C Gehirn und Rückenmark vom Huhne verwendet wurde. Die Tabelle zeigt deutlich, daß weder Gehirn und Rückenmark vom Kaninchen noch die gleichen Organe vom Huhne in vitro irgend welche neutralisierende Wirkung auf das in der Organsubstanz gebundene Gift ausüben.

Folgerungen aus den Versuchen mit E.T.-Organ.

Gestützt auf die Versuche, die ich auf die oben beschriebene Weise angestellt habe, fasse ich meine Beobachtungen in folgende Schlußfolgerungen zusammen:

1) Leber, Lunge, Milz, Gehirn und Rückenmark besitzen die Fähigkeit, das Tetanusgift zu „binden“, d. h. das Gift aus wässriger Lösung zu entziehen.

2) Diese giftbindende Fähigkeit wohnt den einzelnen Organen in verschiedener Stärke inne.

3) Das Antitoxin ist im stande, das Tetanusgift zu neutralisieren, das mit der Organsubstanz verbunden ist, aber unverhältnismäßig schwächer als freies Gift.

4) Das Nervengewebe (Gehirn und Rückenmark) übt auf das mit dem Organ gebundene Gift (im E.T.-Organ) keine giftneutralisierende Wirkung aus.

5) Die Organe vom Huhne besitzen, wie es scheint, die giftbindende Fähigkeit in erhöhtem Grade.

Tabelle
Organ des gesunden

Zeit	Kontroll- versuche. Letzte Schwemm- flüssigkeit	E.T.-Nieren					Mischung von E.T.-Nieren und Antitoxinlösung. Die Mischung stand 12 Stunden		
17. Mai 9 Uhr morgens	0,5 ccm 3 Mäuse						E.T.-N. + Serum 0,4+0,2	E.T.-N. + Serum 0,4+0,1	E.T.-N. + Serum 0,2+0,1
1 Uhr mittags		0,4	0,3	0,2	0,2	0,15 ccm			
18. Mai 9 Uhr morgens	ges.	#	±	±	±	+	g	g	g
5 Uhr nach- mittags		† (11 Uhr)	#	Id.	Id.	Id.			
19. Mai 9 Uhr morgens	ges.		† tot vorgef.	#	#	#	g	g	g
5 Uhr nach- mittags									
20. Mai 9 Uhr morgens				† tot vorgef.	†	† (10 Uhr)			
21. Mai 9 Uhr morgens									
22. Mai									
23. Mai									
24. Mai									
27. Mai 9 Uhr morgens									
29. Mai 9 Uhr morgens									

Zeichenerklärung: — krank; = sehr krank; ≡ moribund. + tetanisch; † stark tetanisch;
E. Ph. n.-Gehirn = Emulsion von normalem Gehirn und physiologischer Kochsalzlösung.

Tabelle 3.
Lebensdauer nach der Injektion in Stunden.

Nummer	Organe von	Quantität der injizierten Emulsion in ccm	Mischung von E.T.- Leber und physiolog. Lösung ana	Mischung von E.T.- Leber und der E. Ph. n.- Rückenmark vom Kaninchen ana	Mischung von E.T.- Leber und der E. Ph. n.- Rückenmark vom Huhne	Mischung von E.T.- Leber und der E. Ph. n.- Gehirn vom Huhne
b	Kaninchen	0,2	46,5	42		
c	„	0,1	64		60	52

Zeichenerklärung siehe Tabelle 2.
Emulsion von Leber und Emulsion von Nierengewebe wurden vermischt und darauf zerrieben. Hernach ließ man die Mischung einige Zeit stehen und schwemmte und zentrifugierte sie auf dem üblichen Wege.

Unwillkürlich drängt sich die Frage auf, was für ein Zusammenhang im E.T.-Organ zwischen Organsubstanz und Gift besteht. Leider verfüge ich nicht über eine hinlängliche Anzahl von Daten, um diese Frage

2.

Meerschweinchens.

Mischung von E.T.-Nieren und Antitoxinlösung. Die Mischung stand 12 Stunden und wurde darauf zentrifugiert und geschwemmt ¹⁾				E.T.-Nieren. Vorher wurde den Mäusen Antitoxinlösung injiziert				Mischung von E.T.-Nieren und E. Ph. n.-Gehirn ana. Die Mischung stand 12 Stunden		
				Um 8 $\frac{1}{2}$ Uhr Antitoxinserum (Höchst.)						
				0,2	0,2	0,1	0,1	0,4	0,4	0,2
0,4	0,3	0,3	0,2	Um 12 $\frac{1}{2}$ Uhr E.T.-N	0,4	0,2	0,2			
								#	±	+
								†		
								5 Uhr		
									+	#
				+						†
				±	+					
				#	±					
+	g	g	g	†	±	+	g			
+					±	+				
±	+	g	g		±	+	g			
					† 27. Mai	g	g			
† 29. Mai	g	g	g							

± an Tetanus moribund. E.T.-Niere = Emulsion von Nieren und Toxinlösung. g = gesund.

in positiver Weise zu entscheiden. Hierzu sind besondere Experimente erforderlich, sowohl physiologische als auch — und zwar hauptsächlich — chemische. Nichtsdestoweniger erlaube ich mir, aus diesem Anlaß einige Bemerkungen einfließen zu lassen. Am einfachsten wäre es anzunehmen, daß die Organe das Gift aus der Lösung an sich reißen, analog der Weise, wie Calcium phosphoricum das Pepsin aus der Lösung an sich zieht.

In diesem Falle hält das Calcium phosphoricum das Pepsin so fest, daß die darauffolgende Abschwemmung des Sediments mit Wasser nicht ausreicht, um das Ferment vom Salze zu entfernen. Wenn die Annahme richtig wäre, so schiene es uns unverständlich, weshalb die einzelnen Organe bei ihrer physischen Konformität nicht in gleicher Weise die Toxinteilchen aus der Lösung an sich ziehen. Besonders tritt letzteres bei einer Vergleichung der Wirkung von Gehirn- und Rückenmarkemulsion hervor. Trotz der völligen physischen Konformität ihrer Emulsionen ist die Verschiedenheit ihrer Wirkungen besonders bemerkbar. Andererseits üben Emulsionen von gleichen Organen vom Huhne und vom Meer-

1) Letzte Schwemmflüssigkeit — keine Spuren von Antitoxin. Antitoxin E.T.N. im selben Verhältnis wie im Versuch zuvor.

schweinchen in gewissem Grade verschiedene Wirkung aus. Die Mäuse, die mit Organsubstanz vom Huhne vergiftet wurden, gehen rascher zu Grunde als solche, denen Organsubstanz vom Meerschweinchen injiziert wird.

Das Antitoxin, welches *in vitro* die Giftlösung mit größter Leichtigkeit neutralisiert, erfüllt trotz großer Quantität seine Aufgabe gegenüber dem in der Organemulsion gefundenen Gift nur mit Mühe. Aller Wahrscheinlichkeit nach liegt in diesem Falle eine viel kompliziertere und zähere Verbindung vor als ein bloßes Anlagern der Toxinteilchen an die Zellen der Organe, und wir sind geneigt, in Uebereinstimmung mit Blumenthal, Wassermann und Milchner dem Gedanken Raum zu geben, daß die Verbindung wohl eine chemische ist.

Jedoch, sogar wenn wir annehmen, daß die Verbindung zwischen Toxin und Gewebe eine biologische oder chemische sei, bedarf noch ein Punkt der Aufklärung, warum die Mäuse nach Injektion von verschiedenen Organemulsionen nicht gleichzeitig, sondern in einer bestimmten Aufeinanderfolge zu Grunde gehen. Natürlich sind hier mehrere Annahmen zulässig.

1) Die einzelnen Organe besitzen nicht in gleichem Maße die Fähigkeit, das Gift zu „binden“, d. h. sich einzuverleiben.

2) Die giftbindende Kraft kann den einzelnen Organen in gleichem Maße innewohnen, die Intensität dieser Bindungen verschieden sein (z. B. Rückenmark gibt das Gift vielleicht wieder leichter ab als das Gehirn).

3) Die einzelnen Organe binden das Gift in gleichem, neutralisieren es aber in verschiedenem Grade.

Bisher haben wir keine Daten, auf Grund deren wir sagen könnten, welche von diesen Annahmen die richtigste sei. Möglicherweise üben diese Ursachen eine kombinierte Wirkung aus. Der Wunsch, der Lösung dieser Frage näher zu rücken, bewog mich, folgende Versuche vorzunehmen. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der grossen Haustiere.

Von **J. Bongert**,

städtischem Tierarzt und Leiter des bakteriologischen Laboratoriums auf dem städtischen Schlachthofe zu Berlin.

Mit 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Außer der Momontschen Arbeit finden sich noch verschiedene Angaben in der Literatur, welche eine längere Lebensdauer der Milzbrandbacillen einwandfrei beweisen.

Abel (69) konnte in dem 22 Tage lang eingepökelten Fleisch einer an Milzbrand gestorbenen Kuh durch mikroskopische Untersuchung und Plattenkultur Milzbrandbacillen nachweisen. Bei einem Salzgehalte von 7—12 Proz. sterben die Milzbrandbacillen innerhalb 4 Wochen ab.

Peuch (70) gelang der Nachweis der Milzbrandbacillen in einem gesalzenen Schinken eines an Milzbrand gestorbenen Schweines am

14. Tage nach dem Tode, nach 6 Wochen waren jedoch Milzbrandbacillen nicht mehr nachzuweisen.

Troitzky (71) gibt an, daß Milzbrandbacillen auf Schwarzbrot 28 Tage, auf Weißbrot 37 Tage lang lebensfähig bleiben.

Endlich konnte Galtier (72) in Organstücken von milzbrandigen Kadavern, welche in Glycerin aufbewahrt wurden, nach Verlauf von mehreren Tagen durch Verimpfen von Material aus der Mitte Milzbrandbacillen nachweisen.

Aus den obigen Angaben ist ersichtlich, daß der Milzbrandbacillus längere Zeit lebensfähig bleibt, wenn er dem schädigenden Einflusse sekundärer Bakterien entzogen wird. Am sichersten wird letzteres herbeigeführt durch Eintrocknen, wie die Resultate des lange ermöglichten Nachweises der im Blute eingetrockneten Milzbrandbacillen durch Kultur beweisen. Dasselbe läßt sich aber auch erreichen, wenn auch nicht so gut, indem man größere bacillenhaltige Organstücke in einer leicht desinfizierenden Flüssigkeit mit geringem Diffusionsvermögen aufbewahrt, welche die schrankenlose Entwicklung von Fäulnisbakterien hemmt. In dem Grade aber, wie diese Flüssigkeit (Pökellake, Glycerin) in das Innere eindringen, werden auch die Milzbrandbacillen allmählich abgetötet, so daß man schließlich auch in der Mitte der Organstücke keine lebensfähigen Milzbrandbacillen mehr nachweisen kann. Schon aus rein praktischen Gründen empfiehlt sich die letzte Methode der Konservierung von Milzbrandmaterial nicht. Dahingegen gewährt die Methode der Aufbewahrung von Milzbrandmaterial in eingetrocknetem Zustande in sterilen Reagenzröhrchen, an Seidenfäden, auf trockenem Weißbrot, am praktischsten aber auf Objektträgern in Verbindung mit dem Plattenverfahren die größtmögliche Sicherheit für die Milzbranddiagnose. Durch erstere wird eine Konservierung des zu untersuchenden Materials in dem Zustande, in welchem es sich bei der Entnahme befand, für längere Zeit gewährleistet, letzteres sichert den Nachweis von Milzbrandbacillen unter Verhältnissen, wo derselbe durch mikroskopische Untersuchung oder durch Impfung erschwert oder selbst unmöglich ist.

Untersuchungen über die Bedingungen der Sporenbildung in faulendem Milzbrandmaterial.

Bei den Versuchen über den Nachweis der Milzbrandbacillen im faulenden Milzbrandmaterial war mir aufgefallen, daß trotz günstiger Verhältnisse zur Sporenbildung eine solche in der Regel nicht nachzuweisen war. Nur in einem Falle, bei welchem die Sektion des an Milzbrand gestorbenen Tieres und zugleich die Entnahme der zu dem Versuche benutzten Milz alsbald nach dem Tode vorgenommen und dieselbe unter günstigen Temperaturverhältnissen offenstehend aufbewahrt wurde, trat Sporenbildung ein (No. 14 der Tabelle). Diese Beobachtung mußte auffallen, da an Häuten von Milzbrandkadavern vielfach Sporenbildung direkt nachgewiesen werden konnte (Kitt), und erfahrungsgemäß bei unzweckmäßiger Verscharrung von Milzbrandkadavern, namentlich wenn bacillenhaltiges Blut und blutiger Kot bei günstigen Temperaturverhältnissen mit der Erdoberfläche in Berührung kommt, Sporenbildung eintritt, welche zu wiederholten Milzbranderkrankungen, dem Stationärwerden der Seuche, Veranlassung gibt (Koch, Kitt, Soyka). Es lag bei Berücksichtigung dieser tatsächlichen Erfahrungen nahe, die Ursache zu dem Ausbleiben der Sporenbildung bei meinen Versuchen trotz günstiger Vorbedingungen — hoher Außentemperatur,

Luftzutritt, genügender Feuchtigkeit — in der Art der Aufbewahrung zu suchen, welche ein Ansammeln der Gewebsflüssigkeit begünstigt, die durch die giftigen Zersetzungsprodukte infolge lebhafter Fäulnis einen zerstörenden Einfluß auf die Milzbrandbacillen ausübt und die Sporenbildung verhindert. Um dieses zu beweisen, stellte ich folgenden Versuch an: Je 2 sterile Mäusegefäße füllte ich zu $\frac{3}{4}$ mit Gartenerde und mit Sand und verscharrte in diesen 4 Gefäßen oberflächlich etwa 5 cm tief je ein gänseeigroßes Stück Milz von einem an Milzbrand gestorbenen Rinde, das wenige Stunden nach dem Tode sezirt wurde und in Blut und Milz starken Bacillengehalt darbot (No. 11 der Tabelle). Je 1 Gefäß mit Gartenerde und mit Sand wurde mehrere Male mit etwa 18° C warmem Leitungswasser angefeuchtet, die beiden anderen Gefäße blieben trocken. In einer Glasschale wurde als Kontrollobjekt der Rest der Milz aufbewahrt. Die Aufbewahrung der 5 Gefäße geschah in einem geheizten Zimmer, in welchem 5 Tage lang die Temperatur ständig über 20° C gehalten wurde. Am 12. Tage wurde die Prüfung auf Sporenbildung vorgenommen. Ich schwemmte eine größere Menge Material aus jedem Gefäße in Bouillon auf. Von den verscharrten Milzstücken entnahm ich Material von diesen selbst, sowie von der umgebenden Erdschicht. Alsdann erhitzte ich diese 5 Aufschwemmungen 1 Stunde lang im Wasserbade auf 70°, verteilte dieselben gleichmäßig auf eine größere Anzahl von Petrischen Schalen und vermischte das Aussaatmaterial mit dem verflüssigten und auf 43° abgekühlten Inhalt je 1 Agarröhrchens. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Brutschranke waren nur in den mit dem Material aus der feucht gehaltenen Gartenerde beschickten Platten in größerer Zahl typische Milzbrandkolonien fast vollkommen rein aufgegangen; die größere Anzahl der Platten war steril geblieben. Daß nur in der angefeuchteten Gartenerde Sporenbildung eingetreten war und nicht auch in dem angefeuchteten Sande, war auffallend. Ich war im Anfange geneigt, dieses auf einen Untersuchungsfehler zurückzuführen. Ich nahm infolgedessen noch zweimal in größeren Zwischenräumen die Prüfung auf das Vorhandensein von Sporen in der beschriebenen Weise vor, erhielt jedoch dasselbe Resultat, nur mit dem Unterschiede, daß nun in den Platten in größerer Zahl auch andere Keime aufgingen. Daß in dem nicht angefeuchteten Sande und der Erde keine Sporenbildung eintrat, ist in dem Mangel an ausreichender Feuchtigkeit zu suchen. Der negative Sporenbefund bei dem im angefeuchteten Sande verscharrten Milzstück erklärt sich durch die große Durchlässigkeit des Sandes, welche ein schnelles Abfließen des aufgegossenen Wassers in die tieferen Schichten ermöglichte, wodurch infolge schneller Verdunstung der zur Sporenbildung erforderliche Feuchtigkeitsgrad sehr bald schwinden mußte. Es war somit der Beweis erbracht, daß in der Tat bei der Aufbewahrung von Milzbrandmaterial in einer Glasschale die Sporenbildung in der Regel verhindert wird, während in feuchter Gartenerde eine reichliche Sporenbildung eintritt. Auf den Einfluß des Erdbodens in Betreff der Sporenbildung hat R. Koch zuerst aufmerksam gemacht. Nach Soyka (43) begünstigt der Erdboden direkt die Sporenbildung. S. experimentierte mit frischen, sporenlosen Bouillonkulturen des Milzbrandbacillus, welche er in stets gleicher Menge in verschiedenen große Quantitäten von Quarzsand, der in Flaschen gefüllt war, verteilte, oder umgekehrt, indem er verschiedene große Kulturmengen dem „künstlichen Boden“ zusetzte. Auf diese Weise konnte S. die wechselnden Feuchtigkeitsverhältnisse des Erd-

bodens herbeiführen und feststellen, daß unter der Mitwirkung des „Bodens“ die Sporenbildung der Milzbrandbacillen viel rascher von statten geht, als ohne Beteiligung desselben in den Kontrollkulturen. Aus meinen Versuchen mit Milzbrandmaterial geht nun weiter hervor, daß sogar ohne Beteiligung des Erdbodens die Sporenbildung vollkommen ausbleiben kann, daß gerade das Absickern in den Erdboden die Sporenbildung in den milzbrandbacillenhaltigen Abgängen erst ermöglicht. Dieses erklärt sich durch vermehrten Luftzutritt infolge vergrößerter Oberfläche, welche durch die Porosität des Erdbodens bedingt ist. Es ist aber auch ein gewisser Grad von Feuchtigkeit, welche sich der Gewebsflüssigkeit, in der die Milzbrandbacillen enthalten sind, mitteilt, Grundbedingung zur Sporenbildung, wie der obige Bodenversuch beweist. Die günstige Wirkung eines gewissen Grades von Bodenfeuchtigkeit ist eine mehrfache. Vor allen Dingen wird eine Verdünnung des Nährbodens, in diesem Falle der Gewebsflüssigkeit, in welcher sich die Milzbrandbacillen befinden, herbeigeführt, wodurch erst der Reiz zur Sporenbildung ausgelöst wird (Buchner). Es findet aber auch zugleich eine Verdünnung der Fäulnistoxine und ein Fortschwemmen der Fäulniserreger statt, welche die Lebensfähigkeit der Milzbrandbacillen bedrohen. Daß ein gewisser Feuchtigkeitsgehalt von größerer Bedeutung für die Sporenbildung ist, wie die Verteilung der in Blut oder Gewebsflüssigkeit enthaltenen Milzbrandbacillen auf eine größere Fläche infolge Einsaugens in einen porösen Körper und der dadurch erleichterte Zutritt des „O“ der Luft, läßt sich durch folgenden Versuch leicht beweisen. Als porösen Körper kann man altbackene Weißbrötchen benutzen. Bringt man Milzbrandblut (oder Milzpulpa) auf die Schnittfläche derselben, so zieht es in kurzer Zeit ein. Man erreicht hierdurch eine Verteilung auf eine größere Fläche und damit ungehinderten Luftzutritt in derselben Weise, wie auf der Erdoberfläche. Läßt man nun einen Teil der Brötchen trocken, während man den anderen Teil mehrere Male anfeuchtet, so wird bei Aufbewahrung unter günstigen Temperaturverhältnissen in den angefeuchteten Weißbrötchen eine reichliche Sporenbildung der Milzbrandbacillen stattfinden, in den trockenen dahingegen nicht. Die ursächlichen Momente, welche im Erdboden die Sporenbildung der Milzbrandbacillen herbeiführen, sind demnach ein bestimmter Feuchtigkeitsgrad des Erdbodens, wodurch gleichzeitig eine Verdünnung des Nährsubstrats, in welchem die Milzbrandbacillen enthalten sind, herbeigeführt wird, ungehinderter Luftzutritt, welcher durch das Eindringen in den porösen Erdboden infolge Vergrößerung der Oberfläche in zweckmäßigster Weise ermöglicht ist, und günstige Temperaturverhältnisse. Wenn die Verdünnung der Gewebsflüssigkeit, in welcher die Milzbrandbacillen sich befinden, im Kontakt mit dem Erdboden Sporenbildung herbeiführen konnte, dann mußte eine solche auch in der Glasschale nach Verdünnung des Milzbrandmaterials möglich sein. Und in der Tat konnte ich in mehreren Milzbrandproben, welchen in flachen Glasschalen aufbewahrt wurden, Sporenbildung nachweisen, als Leitungswasser, Aqua destill. oder 2-proz. NaCl-Lösung zugesetzt wurde. Jedoch trat Sporenbildung nur ein, wenn die Fäulnis noch nicht zu weit vorgeschritten war. Also nicht nur in Reinkulturen, sondern auch bei Konkurrenz mit Fäulnisbakterien im geöffneten Kadaver kann man mit der Buchnerschen Methode der Verdünnung Sporenbildung herbeiführen. Das Ausbleiben der Sporenbildung in dem in einer Glasschale

aufbewahrten Milzbrandmaterial kann man mit dem ähnlichen Verhalten der Milzbrandbacillen in flüssigen Blutserumkulturen in Parallele stellen. Hier wie dort fehlt bei dem Vorrat an Nährmaterial der Reiz zur Sporenbildung. Bei den flüssigen Blutserumkulturen der Milzbrandbacillen die Unmöglichkeit der Erschöpfung des Nährbodens annehmen zu wollen, ist aber nicht vollkommen zutreffend. Ich habe bei Milzbrandkulturen in flüssigem Blutserum, welche sich zuerst 10—14 Tage lang in Reagenzröhrchen befanden und spärliches Wachstum neben mangelnder Sporenbildung zeigten, sofort beschleunigtes Wachstum und auch Sporenbildung eintreten sehen, als ich die Kulturen in sterile, flache Kölbchen füllte, so daß bei der größeren Bodenfläche und Weite des Gefäßes ein besserer Luftzutritt möglich war. Durch mehrmaliges Umschütteln des zähflüssig gewordenen Serums konnte eine Beschleunigung der Sporenbildung herbeigeführt werden, da hierdurch das Fadengewirr der Milzbrandbacillen mehr verteilt und ein schnelleres Durchwachsen und Erschöpfen des Nährbodens herbeigeführt wurde. Demnach ist also nicht der vermehrte CO_2 -Gehalt des Serums, wie Behring (40) annahm, sondern das Züchten im Reagenzglas in hoher Schicht in Verbindung mit der zähflüssigen Beschaffenheit des Blutserums die Ursache für das Ausbleiben der Sporenbildung der Milzbrandbacillen in flüssigen Serumkulturen.

Nachdem der Beweis erbracht war, daß hauptsächlich physikalische Momente die Sporenbildung der Milzbrandbacillen beeinflussen, wozu in zweiter Linie der schädigende Einfluß der Fäulnisprozesse auf die Lebensfähigkeit der Milzbrandbacillen hinzukommt, suchte ich nun festzustellen, in welcher Weise die Fäulnisreger entwickelungshemmend auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen einwirken. Wie bereits erwähnt, konnte bei den meisten Bakterien, welche einen entwickelungshemmenden Einfluß auf die Milzbrandinfektion auszuüben im stande sind, eine wachstumshemmende Wirkung in Kulturen nicht nachgewiesen werden. In Mischkulturen des Milzbrandbacillus mit dem *Staphylococcus pyogenes aureus* oder dem *Bacillus prodigiosus* beobachtete Pawlowsky (l. c.) das Auftreten von Involutionsformen des Milzbrandbacillus, die Sporenbildung desselben wurde jedoch nicht verhindert. Nur bei *Bacillus pyocyaneus* ist festgestellt worden, daß derselbe nicht nur im Tierkörper, sondern auch in der Kultur einen wachstumshemmenden und zugleich zerstörenden Einfluß auf die Milzbrandbacillen ausübt und auch die Sporenbildung verhindert, wie Charrin (l. c.) hervorhebt. Dieselbe Wirkung haben, wie wir gesehen haben, in ausgezeichneter Weise im nicht eröffneten Kadaver jene plumpen, anaëroben Stäbchen mit endständigen Sporen. Hiernach wäre anzunehmen, daß eine hemmende Wirkung auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen nicht allen Bakterien zukommt oder doch nur im beschränkten Maße. Zur Entscheidung dieser Frage stellte ich folgende Versuche an:

Ich richtete Mischkulturen des Milzbrandbacillus mit den in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Bakterien in Bouillon in folgender Weise her. In Erlenmeyersche Kölbchen mit großem, flachem Boden, welche zur Begünstigung der Sporenbildung, nur eben den Boden bedeckend, etwa $\frac{1}{2}$ cm hoch mit Bouillon gefüllt waren, impfte ich zuerst mehrere Oesen Herzblut von einem Milzbrandmeerschweinchen, welches sofort nach dem Tode sezirt wurde, und darauf in jedes Kölbchen je 1 Oese Reinkultur der nachstehend aufgeführten Bakterien. Die Mischkultur mit den anaëroben Fäulnisstäbchen, welche aus einem

suffokatorisch eingegangenen Schafe isoliert worden waren, ist in der Weise hergestellt worden, daß dem mit Milzbrand geimpften Kölbchen etwa 2 ccm einer in der Buchnerschen Röhre gezüchteten Bouillonkultur zugesetzt wurde. 1 Kölbchen, nur mit Milzbrand geimpft, blieb zur Kontrolle. In den am 3. Tage angefertigten Ausstrichpräparaten der bei 36° gehaltenen Mischkulturen waren nur in dem Staphylokokkenkölbchen lange Milzbrandfäden nachzuweisen, in den übrigen fanden sich nur kurze Verbände von Milzbrandbacillen, welche vakuolären Zerfall zeigten. In dem *Pyocyanus*-Kölbchen waren nur noch vereinzelte gequollene Gebilde als Ueberreste von Milzbrandfäden vorhanden. In keinem Kölbchen waren sporenhaltige Milzbrandbacillen oder freie Sporen im Ausstriche nachzuweisen, dahingegen war in dem Kontrollkölbchen eine lebhafte Sporenbildung zu beobachten. Es fanden sich unzählige Sporen in und außerhalb der langen Bacillenfäden liegend. Am 6. und 20. Tage nach Anlegen der Kulturen wurde die Prüfung auf Sporenbildung vorgenommen, indem nach vorherigem gründlichem Umschütteln der Kulturen in je 1 Röhrenchen mit flüssigem und auf ca. 70° abgekühltem Agar 4 Oesen von jeder Mischkultur übertragen wurden, von der Milzbrandkultur jedoch nur 1 Oese. Nach 1-stündiger Erhitzung im Wasserbade auf 70° wurden die geimpften Röhrenchen zu Platten ausgegossen. Die Zählung der in Reinkultur aufgegangenen Milzbrandkolonien geschah nach 48 Stunden mit dem Plattenzählapparat und ergab folgendes Resultat:

Prüfung der Sporenbildung
in Mischkulturen des Milzbrandbacillus mit nachstehenden Bakterien, angelegt am
1. November 1902 in Erlenmeyerschen Kölbchen.

Art der Mischkultur	Zahl der auf- gegangenen Kolonien		Art der Mischkultur	Zahl der aufgegan- genen Kolonien	
	am 7. Sept. 1902	am 21. Sept. 1902		am 7. Sept. 1902	am 21. Sept. 1902
Milzbrandbacillus + B. <i>pyocyanus</i>	—	—	Milzbrandbacillus + Bac. butyr.	42	50
Milzbrandbacillus + Bact. <i>proteus</i>	42	20	Milzbrandbacillus + Bac. suisestifer	—	1
Milzbrandbacillus + Bact. <i>coli</i>	482	15	Milzbrandbacillus + Bac. suisest.	3	21
Milzbrandbacillus + Bac. <i>acidi lact.</i>	82	74	Milzbrandbacillus + Bac. <i>dysenteriae vitul.</i>	76	81
Milzbrandbacillus + Bac. <i>fluorescens</i>	84	78	Milzbrandbacillus + an- aërobe Fäulnisstäbchen (Kadaverbacillen)	14	6
Milzbrandbacillus + Sta- <i>phylococcus albus</i>	792	24	Milzbrandbacillenrein- kultur	(1624)6496	unzählbar
Milzbrandbacillus + Bac. <i>typhi mur.</i>	4	6			

Um das richtige Vergleichsverhältnis der aus den Mischkulturen aufgegangenen Kolonien mit der Zahl der aus der Reinkultur der Milzbrandbacillen aufgegangenen zu erlangen, ist die letztere noch mit 4 zu multiplizieren, da zum Anlegen der Platte aus der Reinkultur nur 1 Oese, zu den Platten der Mischkulturen dahingegen 4 Oesen verwandt wurden.

Aus dem obigen Versuchsergebnis geht somit hervor, daß die genannten Bakterien das Wachstum der Milzbrandbacillen allerdings nicht

verhindern können, jedoch zweifellos hemmen und die Sporenbildung zum Teil ganz erheblich einschränken. Vollständig verhindert die Sporenbildung, wie bereits Charrin festgestellt hat, der *Bacillus pyocyaneus*. Auch die Kadaverbacillen beeinträchtigen das Wachstum und die Sporenbildung der Milzbrandbacillen ganz bedeutend, obgleich der Versuch mit Rücksicht auf die Möglichkeit der Sporenbildung nicht anaërob, den eigentlichen Lebensbedingungen jener Stäbchen entsprechend, angestellt werden konnte. Es ist aber hieraus zu folgern, daß dieselben nicht nur im uneröffneten Kadaver — dort allerdings schnell und vollständig — sondern auch bei Luftzutritt durch ihre Stoffwechselprodukte die Entwicklung und Sporenbildung der Milzbrandbacillen ganz erheblich beeinträchtigen. Eine Wiederholung des Versuches mit dem Filtrate einer Bouillonkultur der Kadaverbacillen ergab dasselbe Resultat. Auffallend trat die Behinderung der Sporenbildung noch in die Erscheinung beim Schweinepest- und Schweineseucheerreger, während bei *Bact. coli* und bei *Staphylococcus albus* diese Wirkung weniger auffallend war. Bemerkenswert für letztere ist die erhebliche Abnahme der Zahl der aufgegangenen Kolonien bei der nach 20 Tagen stattgefundenen Untersuchung. Ein Untersuchungsfehler ist ausgeschlossen, da ich bei der Nachprüfung und bei einer Wiederholung des Versuches dasselbe Resultat erhielt. Man könnte also annehmen, daß eine nachherige allmähliche Abtötung der Milzbrandsporen durch die Stoffwechselprodukte des *Bact. coli* und der Staphylokokken stattgefunden hat.

Nicht so ausgesprochen, wie in dem obigen Versuche, war die hemmende Wirkung auf die Sporenbildung, als ich in 18-stündige, gut bewachsene Bouillonkulturen des Milzbrandbacillus in Erlenmeyer'schen Kölbchen jene Bakterienarten einimpfte. Die Prüfung auf Sporenbildung geschah in derselben Weise, wie bei dem vorigen Versuche.

Prüfung der Sporenbildung
in Milzbrandkulturen, in welche nach 18 Stunden verschiedene Bakterienarten
eingimpft wurden.

Mischkulturen am 2. Sept. 1902 angelegt	Am 12. Sept. Sporenbildung geprüft
Milzbrandkultur + <i>Bac. pyocyaneus</i>	—
„ + <i>Bact. proteus</i>	296
„ + „ <i>coli</i>	436
„ + <i>Bac. fluorescens</i>	784
„ + „ <i>butyricus</i>	275
„ + „ <i>acidi lact.</i>	312
„ + „ <i>dysenteriae vitul.</i>	384
„ + <i>Staphylococcus albus</i>	694
„ + <i>Bac. typhi mur.</i>	68
„ + anaërobe Fäulnisstäbchen aus Schaf (Kadaverbacillen)	28
Milzbrandbacillenreinkultur zur Kontrolle	unzählbar

Auch bei dieser Versuchsanordnung, welche dem Ansiedeln von Mischbakterien im eröffneten Milzbrandkadaver Rechnung trägt, zeigte sich die bakterizide Wirkung des *Bacillus pyocyaneus* und der Kadaverbacillen in eklatanter Weise, so daß die Sporenbildung vollkommen verhindert bzw. nur in einem sehr beschränkten Maße möglich war. Jedoch ist eine weniger deutliche Hemmung der Sporenbildung mit Ausnahme des *Bacillus pyocyaneus* unverkennbar. Dieses

Resultat ist jedoch zum Teil darauf zurückzuführen, daß bereits vor der Einsaat der Mischbakterien in die Milzbrandbouillonkultur beginnende Sporulation in den letzteren durch Plattenaussaat (nach vorheriger Abtötung der vegetativen Form des Milzbrandbacillus durch 1-stündige Erhitzung auf 70°) mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Aber gerade der letztere Umstand ist ein Beweis dafür, daß die schädigende Wirkung der Mischbakterien auf die Milzbrandbacillen keine indirekte, etwa in der Erschöpfung des Nährbodens durch erstere zu suchen ist, wie man bisher angenommen hat — denn eine solche war schon eingetreten, sonst würde die Sporulation nicht eingesetzt haben — sondern daß dieselbe als eine direkte aufzufassen ist, wodurch eine Abtötung der Milzbrandbacillen und eine Verhinderung zur Sporenbildung herbeigeführt wird.

Durch die obigen Versuche ist somit zahlenmäßig für eine Reihe von Bakterien, welche zum Teil ein saprophytisches Dasein führen und gelegentlich auch in eröffneten Milzbrandkadavern sekundär auftreten, nachgewiesen, daß dieselben die Sporenbildung der Milzbrandbacillen mehr oder weniger verhindern können.

Da die Sporulation der Milzbrandbacillen vom freien Luftzutritt, einer Temperatur von mehr als 12° C und von genügender Feuchtigkeit abhängig ist, suchte ich festzustellen, ob vorübergehende, mehr oder weniger lange anhaltende ungünstige Verhältnisse mit Rücksicht auf eine dieser drei genannten Grundbedingungen die Sporenbildung der Milzbrandbacillen ungünstig beeinflussen oder verhindern können.

Mit dieser Frage hat sich auch Schreiber (l. c.) beschäftigt. Er konnte feststellen, daß plötzliche und erhebliche Temperaturschwankungen selbst innerhalb der Wachstumsgrenze die Milzbrandbacillen erheblich schädigen und die Sporenbildung in Frage stellen. Die Angaben von Schreiber kann ich bestätigen. Das Herausnehmen frisch aufgegangener Milzbrandkulturen aus dem Brutschrank vor Beginn der Sporulation und Aufbewahren bei Zimmertemperatur hat das Auftreten von Involutionsformen der Milzbrandbacillen und eine erhebliche Störung der Sporenbildung zur Folge. Auch bei Züchten der Milzbrandbacillen in Bouillon in hoher Schicht sah Schreiber nach 5 Tagen körnigen Zerfall derselben eintreten, ohne daß Sporenbildung eintrat. Kitasato (74) beobachtete unter ähnlichen Verhältnissen, bei Aufbewahren von Milzbrandkulturen im Erdboden $\frac{1}{2}$ —1 m tief, in 2—3 Wochen ein Absterben der Milzbrandbacillen, wenn es nicht zur Sporenbildung gekommen war. In Betreff des Einflusses niedriger Temperaturen unter Null auf die Lebensfähigkeit der Milzbrandbacillen liegen Versuche vor von Kleprow (77). Hiernach sterben Milzbrandbacillen in Agarkulturen bei einer Temperatur von -1 bis -24° , im Durchschnitt $-10,4^{\circ}$, erst in 12 Tagen größtenteils ab. Ein Vergleich mit den Kitasatoschen Angaben beweist, daß nicht die Kälte an sich die Milzbrandbacillen zum Absterben bringt, sondern die durch diese bedingte Verhinderung der Sporulation, infolgedessen an den Bacillen die regressiven Veränderungen der Plasmolyse und des körnigen Zerfalles eintreten.

Bei meinen Versuchen zur Feststellung der Wirkung einer vorübergehenden Temperatur unter 12° C auf die Sporenbildung benutzte ich zuerst 12-stündige Bouillonkulturen, die im Eisschrank bei einer Temperatur von $+8^{\circ}$ C aufbewahrt wurden. Allein hierbei konnte ich ein Urteil über etwaige Schädigung der Sporulation nicht gewinnen. Da die Bouillonkultur nach 12-stündigem Wachstum im Brutschrank noch

nicht erschöpft war und letzteres nur so lange sistierte, als die niedrige Temperatur einwirkte, setzte aufs neue lebhaftes Wachstum ein mit normaler Sporenbildung, sobald die Kulturen wieder in den Brutschrank gestellt wurden. Ich legte nun Agarkulturen in Röhrrchen und in Petrischen Schalen an, welche nach 15 Stunden in den Eisschrank gebracht wurden, mit Ausnahme von je 1 Platten- und Reagenzglaskultur, welche zur Kontrolle im Brutschrank bei 36° verblieben. In Agarkulturen tritt an der Stelle, wo eine Milzbrandkolonie aufgeht, sehr bald Erschöpfung des Nährbodens ein, da eine Ergänzung desselben aus der Nachbarschaft bei der festen Beschaffenheit des Nährbodens nicht möglich ist. Andererseits ist es aber bei Verwendung von Agarkulturen unmöglich, das Versuchsergebnis zahlenmäßig durch Feststellung der in der Platte aus Sporen aufgehenden Kolonien festzulegen, wie bei den obigen Versuchen, da ein genaues Abmessen der Kulturmassen von festen Nährhöden durch die Oese oder durch Abwägen nicht möglich ist wie bei Bouillonkulturen. Ich war daher auf die vergleichenden Untersuchungen von Ausstrichpräparaten angewiesen. Vom 2. Tage an wurde an jedem Tage, im ganzen 10 Tage hintereinander, je 1 Milzbrandröhrrchen und Platte in den Brutschrank gestellt und am 5. Tage, nachdem die letzten Kulturen aus dem Eisschranke genommen waren, fand die Untersuchung in Ausstrichen statt. Es stellte sich nun heraus, daß in der Tat nach 5-tägiger Unterdrückung der Sporenbildung durch Aufbewahren bei einer Temperatur unter 12° C eine auffallende Störung in derselben sich bemerkbar machte. Während in den Ausstrichen der Kontrollkulturen fast nur freie Sporen, zum Teil in kleineren Häufchen vereinigt, und ganz vereinzelt in Zerfall begriffene Milzbrandbacillen nachzuweisen waren, befanden sich in den 5—10 Tage lang im Eisschranke aufbewahrten Kulturen nur ganz vereinzelt Sporen. In Ausstrichen der am 10. Tage in den Brutschrank gestellten Kulturen waren keine Sporen erkennbar; ihr Nachweis gelang erst durch Plattenaussaat nach vorheriger Erhitzung, wobei aus einer mittelgroßen Oese Kulturmaterial nur in geringer Zahl isolierte Milzbrandkolonien aufgingen. In den Ausstrichpräparaten traten hauptsächlich körnige Detritushaufen und kurze, stark gebogene und gekräuselte Involutionsformen der Milzbrandbacillen mit Erscheinungen der Plasmolyse und Plasmoptyse hervor, aber keine sporentragenden Milzbrandbacillen. Diese auffällige Störung in der Sporenbildung zeigte sich auch noch in den nachfolgenden Generationen und glich sich erst allmählich aus.

In ähnlicher Weise stellte ich den Versuch an, um den nachteiligen Einfluß anaërober Verhältnisse auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen darzutun. Ich verwandte 15-stündige Milzbrandkulturen in Bouillonröhrrchen, in welchen der Nährboden nur eben die Kuppe des Röhrrchens ausfüllte, und brachte diese in Buchnerschen Röhren in anaërobe Verhältnisse. Nach bestimmten Zeiträumen nahm ich die Kulturen aus den Buchnerschen Röhren und stellte sie in den Brutschrank. Der Nachweis der Sporen geschah durch Plattenkultur in der mehrfach erwähnten Weise am 5. Tage, nachdem das letzte Röhrrchen aus der Buchnerschen Röhre genommen worden war.

Die Untersuchung ergab folgendes Resultat (s. Tabelle p. 23).

Nach 17-tägigem Aufbewahren unter anaëroben Verhältnissen war somit eine Sporenbildung nicht mehr nachzuweisen und nach 2 Tagen zeigte sich dieselbe bereits beeinträchtigt.

Nach diesem Ausfall war anzunehmen, daß auch unter anaëroben

	Datum der Herausnahme aus der Buchnerschen Röhre	Röhrchen No.	Anzahl der aufgegangenen Kolonien
Kulturanlage am 2. Okt. 1902, am 3. Okt. 1902 Kulturen in anaërobe Verhältnisse gebracht (Buchner). Am 27. Okt. 1902 Untersuchung auf Sporenbildung durch Plattenaussaat nach vorheriger Erhitzung 1 Stunde lang auf 70° C. Aus Kontrollröhrchen = 1 Oese, den anaërob gehaltenen Röhrchen = je 3 Oesen zur Aussaat genommen	5. Oktober 1902	1	172
		2	150
	7. " 1902	1	162
		2	47
	9. " 1902	1	118
		2	32
	11. " 1902	1	8
		2	36
	13. " 1902	1	10
		2	44
	15. " 1902	1	16
		2	30
	17. " 1902	1	6
		2	15
19. " 1902	1	7	
	2	9	
21. " 1902	1	—	
	2	—	
22. " 1902	1	—	
			—
	Kontrollröhrchen		unzählbar

Verhältnissen oder schon bei ungenügendem Luftzutritt die hemmende Wirkung auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen von seiten sekundärer Bakterien auffälliger hervortreten würde als wie bei unbehindertem Luftzutritt. Und in der Tat zeigte sich dieses bereits, als ich zu den Mischkulturen anstatt der Erlenneyer'schen Kölbchen Reagenzröhrchen, mit etwa 10 ccm Bouillon gefüllt, verwandte. Ein Vergleich der untenstehenden Tabelle mit dem Resultat des in gleicher Weise in Kölbchen ausgeführten Versuches läßt hierüber keinen Zweifel.

Prüfung der Sporenbildung

in Mischkulturen des Milzbrandbacillus mit verschiedenen Bakterien in Reagenzröhrchen. Milzbrandkulturen am 2. Oktober 1902 angelegt, am 3. Oktober 1902 Mischbakterien eingepft, am 21. Oktober 1902 auf Sporenbildung geprüft.

Milzbrandbacillus	+ Bact. coli	4 Oesen	—	Milzbrandkolonien
"	+ Staphyl. albus	4 "	3	"
"	+ B. suipestifer	4 "	—	"
"	+ Kadaverbacillen aus Schaf	4 "	—	"
"	+ kleine bipolare Stäbchen aus Maus	4 "	15	"
"	+ B. butyricus	4 "	—	"
"	+ B. acidi lact.	4 "	4	"
"	+ Bacillus der Kälberruhr	4 "	—	"
"	+ B. proteus	4 "	—	"
"	+ saprophytische Stäbchen, kahm-hautbildend	4 "	—	"
Milzbrandreinkultur (zur Kontrolle)		1 Oese	(1024) 4096	"

Ich hatte nun noch den Einfluß des Eintrocknens der Milzbrandbacillen auf die Sporenbildung zu prüfen. Zu dem Zwecke strich ich zwei mittelgroße Oesen Herzblut von einem Milzbrandmeerschweinchen, welches sofort nach dem Tode sezirt wurde und starken Bacillengehalt darbot, in dünner Schicht auf dem Boden von sterilen Reagenzgläsern aus, so daß dasselbe schnell eintrocknete. Vom 4. Tage an wurde täglich das eingetrocknete Milzbrandblut je eines Röhrchens in 3 ccm sterilem Aqua dest. aufgelöst. Die Hälfte dieser Auflösung wurde mit Agar

zur Platte ausgegossen, um einen Ueberblick über die Zahl der vorhandenen lebensfähigen Milzbrandbacillen zu gewinnen, die andere Hälfte verblieb in dem Röhrchen und wurde nach 3-tägigem Verweilen im Brutschrank bei 36° in der bekannten Weise auf Sporenbildung untersucht. Durch das destillierte Wasser wurde den eingetrockneten Milzbrandbacillen die zur Sporenbildung erforderliche Feuchtigkeit zurückgegeben. Andererseits glaubte ich nach den Angaben von Buchner annehmen zu können, daß infolge der wachstumshemmenden Wirkung des destillierten Wassers die noch lebensfähigen Milzbrandbacillen sofort Sporen bilden würden, daß aber eine Vermehrung der Milzbrandbacillen und ein Entstehen einer neuen Generation wegen Mangels an Nährmaterial ausgeschlossen sei. Nach dieser Ueberlegung wäre also zu erwarten gewesen, daß in den Sporenplatten weniger Milzbrandkolonien aufgehen würden als in Kontrollplatten, da damit zu rechnen ist, daß eine gewisse Anzahl der Milzbrandbacillen zwar noch wachstumsfähig, aber infolge regressiver Veränderungen nicht mehr im stande ist, Sporen zu bilden. Denn aus der Beobachtung der spontanen Entstehung von asporogenem Milzbrand bei fortgesetzter Züchtung in Gelatine und aus der Möglichkeit der künstlichen Darstellung eines solchen kann man folgern, daß die Sporenbildung früher sistiert wie das Fortpflanzungsvermögen. Die obige Annahme bestätigte sich jedoch nicht. Es gingen in den Sporenplatten unzählige Milzbrandkolonien auf. Es mußte demnach eine Vermehrung der noch lebensfähigen Milzbrandbacillen in der dünnen Blutaufschwemmung, eine ganz bedeutende Multiplikation der Milzbrandkeime und Sporulation derselben eingetreten sein. Durch mikroskopische Untersuchung der Aufschwemmung von eingetrocknetem Milzbrandblut in Aqua destillata konnte ich in der Tat eine direkte Vermehrung der Milzbrandbacillen beobachten. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank war die Aufschwemmung meistens noch vollkommen klar; in den Ausstrichpräparaten derselben fanden sich keine Milzbrandbacillen, sondern nur ganz vereinzelte Sporen, welche im Begriff waren, auszukeimen. Nach 48—60 Stunden zeigten sich die Aufschwemmungen leicht getrübt, und in den Ausstrichen waren in größerer Zahl Milzbrandbacillen in kurzen Gliederverbänden mit reihenweise angeordneten Sporen nachzuweisen. Die in dem Blutstropfen eingetrockneten Milzbrandbacillen hatten somit nach der Zugabe von Aqua dest. zunächst Sporen gebildet, welche alsdann in der dünnen Blutlösung wieder zu Bacillen auskeimten. Diese vermehrten sich und bildeten nach der Erschöpfung der dünnen Nährlösung wieder Sporen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Versuche, die Mäuse mittels des von mir aus Zieselmäusen ausgeschiedenen Bacillus in Scheunen und Schobern zu vertilgen¹⁾.


[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des botanischen Institutes der kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von **S. S. Mereshkowsky.**

Die Versuche, Mäuse in Scheunen und Schobern zu vertilgen, bieten meiner Meinung nach ein bedeutend größeres praktisches Interesse als die früher beschriebenen Feldversuche²⁾, denn der Schaden, welchen die Mäuse auf dem Kornfelde Ende des Sommers verursachen, wird gewöhnlich von den Gutsbesitzern kaum geschätzt und letztere ergreifen die nötigen Maßregeln nur dann, wenn das Korn bereits zur Aufbewahrung in Scheunen u. dergl. abgelagert worden ist; hier aber können die Mäuse wegen der reichlichen Futtermengen den Infektionsstoff leicht unbeachtet lassen.

Die genaue Beurteilung der Resultate der Infektion der Mäuse in Scheunen und Schobern ist schwierig und kann nur bei besonderen Vorsichtsmaßregeln stattfinden, die aber nicht immer in der Praxis ausführbar sind. So habe ich in den Versuchen vor der Kommission der Landschaftsabgeordneten des Gouvernements Cherson, wie unten erwähnt, die infizierten Schober, welche mit einer für die Mäuse undurchdringbaren Umzäunung umgeben waren, nach einigen Tagen auseinandergelegt, indem die Spreu von den Arbeitern mit größter Aufmerksamkeit umgeschüttet wurde, damit nur ja keine tote oder noch lebendige Maus unbeachtet bliebe. Die meisten übrigen Infektionsversuche an Scheunen und Schobern mußte ich dagegen ohne jegliche Vorsichtsmaßregeln anstellen; es versteht sich aber von selbst, daß ein guter Erfolg nur da erwartet werden konnte, wo die Scheunen und Schober von solchen natürlichen Grenzen umgeben waren, welche das Ueberlaufen der Mäuse verhinderten.

Einigermaßen diesem entsprechende Bedingungen traf ich an auf dem Landstück in den sogenannten Kamennijja Koscharii des Herrn v. Skadowsky.

Dieses Landstück, von einer Größe von ca. 5 ha, war von allen Seiten von ungepflügter Ursteppe umgeben, welche sich stellenweise mehrere Kilometer weit hinzog. Es befand sich hier ein großes steinernes Gebäude (genannt „Koschara“), welches -artig aus Kalkstein zusammengesetzt und mit Schilf gedeckt war. Der mittlere Teil und einer der beiden Flügel des Gebäudes waren für Schafe zur Ueberwinterung bestimmt, eine Hälfte des anderen Flügels war von Korn eingenommen.

1) Diese Versuche sind von mir im Jahre 1894 ausgeführt und bis jetzt nur russisch veröffentlicht (Archiv veterinärn. nauk. 1896. December); die guten Erfolge, welche Prof. Y. Kozai mit diesen Bacillen bei der Vertilgung von Mäusen im Jahre 1901 in Japan erlangt hat (The bulletin of the college of agriculture, Tokyo imperial university. Vol. IV. 1902. No. 5), veranlassen mich, zu glauben, daß meine Versuche auch den ausländischen Forschern einigermaßen von Interesse sein könnten, weshalb ich mir auch erlaube, dieselben jetzt deutsch zu veröffentlichen.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. No. 2, 3.

Hier waren zum Winter ungefähr 100 000 kg Gerste und 80 000 kg Weizen gelagert.

Auf der einen Seite befand sich neben der „Koschara“ eine Tenne mit Schobern aus 17 800 cbm Stroh, 7 240 cbm Spreu und 25 000 cbm Heu.

Auf der anderen Seite grenzte an sie eine 2 m hohe und 146 m lange Einzäunung, welche aus Stroh zusammengesetzt war und zur Eintreibung der Schafe diente.

In der Umgegend, in der Steppe, befand sich eine nur sehr geringe Anzahl von Mäuselöchern.

In den Schobern, den Gräben, den Strohzäunen etc., welche sich in der Nähe der „Koschara“ befanden, waren dagegen die Mäuse in einer ungeheuren Menge vorhanden.

Die Schober, besonders die aus Spreu zusammengesetzten, waren von oben bis unten mit Mäuselöchern besät. Es war in ihnen ein unaufhörliches Piepen und Rauschen der Mäuse wahrzunehmen. Mit ihrem Umherrennen verursachten die Tierchen auf der Oberfläche der Schober eine ununterbrochene, höchst eigentümliche Bewegung der Spreu.

In der „Koschara“ selbst, besonders in dem Teile derselben, wo das Korn niedergelegt war, befand sich eine eben solche, wenn nicht noch eine bedeutend größere Menge von Mäusen wie in den Schobern.

Das Schilfdach der „Koschara“, welches von den Mäusen siebartig durchlöchert war, die Wände sowie auch das Korn selbst schienen infolge des von ihnen ausgehenden gedämpften Piepens Tausender von Stimmen und des ununterbrochenen Rauschens, als seien sie lebend. Ueberall, besonders aber auf der Oberfläche des Kornes, war eine Menge von Mäusen zu sehen, welche bald hervorkamen und sich neugierig umschaute, bald wieder verschwanden.

In der „Koschara“ wie auch in den Schobern ist es mir nicht gelungen, auch nur eine tote Maus anzutreffen; der hierüber befragte Wächter, welcher auf diesem Landstücke wohnte und nach der „Koschara“ und den Schobern zu sehen hatte, verneinte ebenfalls das Vorkommen von Leichen.

Die Infektion der „Koschara“ wurde vorgenommen am 17. Okt. 1894. Als Infektionsmaterial diente, wie auch bei den früheren Feldversuchen, ein Teig aus Roggenmehl, der mit einer Bouillonkultur des von mir aus Zieselmäusen ausgeschiedenen Bacillus eingeknetet war¹⁾. Der Teig wurde in kleine Würste oder in größere Klumpen ausgerollt, welche dann an Ort und Stelle in kleine Stückchen von Hasel- oder Walnußgröße geteilt und in die Mäuselöcher gelegt wurden.

Die Zweckmäßigkeit dieses Infektionsmaterials zur Infektion der Schober, besonders aber der Scheunen, wo die Mäuse von der verschiedenartigsten Speise in Menge umgeben sind, war erprobt in vorher angestellten Versuchen in anderen Scheunen und Schobern. Sie hat sich auch als durchaus dem Zwecke entsprechend bei der Infektion der „Koschara“ erwiesen: Ich konnte mehrmals beobachten, wie während des Hineinstopfens der Teigklümpchen in die Mäuselöcher sich Mäuse aus denselben herausreckten, gierig die Klümpchen aus den Händen rissen und sie in ihre Löcher zogen.

Zur Infektion der ganzen „Koschara“ sind 4 l Bouillonkultur

1) Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 2, 3.

verbraucht worden. Zwar ist dieses Quantum in Anbetracht der großartigen Dimensionen des Gebäudes und der außerordentlichen Menge der in ihm befindlichen Mäuse geradezu verschwindend gering gewesen, doch war ich gezwungen, hiermit zu geizen, denn mein ganzer Vorrat bestand nur aus 23,5 l Bouillonkultur, ich hatte aber noch die Schober, die Zäune, die Gräben u. a. zu infizieren.

Die Verteilung des Infektionsmaterials in der „Koschara“ erforderte keine besonderen Maßregeln. Die Teigklümpchen wurden, soweit es mein geringer Vorrat an Infektionsmaterial gestattete, in Schlupflöcher gestopft und auch an andere Orte gelegt, wo die Gegenwart von Mäusen vorausgesetzt werden konnte; auf die Oberfläche des Kornes, welches wohl am meisten von den Mäusen besucht wurde, hatte ich außer den kleinen Klümpchen noch große, von der Größe einer Apfelsine, aus dem Teige glatt ausgerollte Kugeln gelegt. Das Dach, welches, wie bereits erwähnt, gleichfalls von Mäusen wimmelte, mußte uninfiziert bleiben, weil die Einrichtung desselben es unzugänglich machte.

Die Infektion der Schober verursachte bedeutend größere Schwierigkeiten. Da die Schober in ihrer ganzen Masse von den Mäuselöchern durchdrungen wurden, so war es wünschenswert, das Infektionsmaterial auf die Oberfläche der Schober gleichmäßig zu verteilen, doch war diese Aufgabe bei den kolossalen Dimensionen der Schober und bei meinem geringen Kulturvorrat geradezu unausführbar. Um aber mit diesem verhältnismäßig kleinen Kulturvorrat eine möglichst große Anzahl von Mäusen zu infizieren, beschloß ich, einige Eigentümlichkeiten in der Einrichtung der Mäusegänge in Schobern möglichst auszunutzen. Am besten waren diese Eigentümlichkeiten in alten Schobern aus Spreu ausgeprägt. Bei aufmerksamer Besichtigung konnte man auf ihrer Oberfläche eine ganze Reihe Stufen oder schmaler Terrassen bemerken, welche den Schober von unten bis oben in zusammenhängenden Windungen umkreisten, auf dieselben öffneten sich eine Menge Mäuselöcher, die ins Innere der Schober führten. Einige dieser Terrassen standen in Verbindung, entweder unmittelbar oder ineinander übergehend, mittels Gängen, welche in der Masse des Schobers ausgegraben waren. Auf der Erde, rings um den ganzen Grund der Schober, befand sich ein Gang, welcher einer großen Galerie sehr ähnlich war. Von dieser Galerie aus führten nach verschiedenen Richtungen glatt ausgetretene Wege, welche auf der Erde entweder vollkommen offen verliefen oder in dieselbe etwas vertieft und mit kleinen Gewölben ausgerüstet waren, die wahrscheinlich im Falle von Gefahr zur Flucht dienten. Einige von diesen Wegen zogen sich zu den Nachbarschobern, andere dagegen führten von einem oder mehreren Schobern, die in manchen Fällen einige Dekameter weit von der „Koschara“ entfernt waren, zu demjenigen Teil der letzteren, welcher mit Korn ausgefüllt war. Es ist augenscheinlich, daß auf diesen Terrassen, Galerien und Wegen der größte Verkehr der Mäuse stattfand. Hier mußten die Mäuse durchlaufen, wenn sie aus einer Etage des Schobers in die andere gelangen wollten, oder wenn sie sich in einen benachbarten Schober oder in die „Koschara“ begaben.

Auf diese Terrassen, Galerien und Wege habe ich mein besonderes Augenmerk gerichtet und möglichst viel vom infizierten Teig ausgelegt. Außerdem wurden noch Teigklümpchen in Mäuselöcher gelegt, die auf der Oberfläche der Schober mündeten, aber nur in einer Höhe von 0,5—1 m.

Zur Infektion der Schober, wie auch der Gräben, Zäune u. dergl. wurde der ganze Rest, d. h. 19,5 l, der Kultur verbraucht.

Am nächsten Tage nach der Infektion der „Koschara“ war es leider nicht möglich, in den mit Korn angefüllten Teil derselben zu gelangen, da der Schlüssel zu diesem in dem ziemlich weit entfernten Gutshause vergessen worden war; infolgedessen konnten die daselbst ausgelegten Teigklümpchen nicht besichtigt werden. In den übrigen Abteilungen der „Koschara“ erwies sich die Mehrzahl der Teigklümpchen schon vernichtet, die zurückgebliebenen aber zeigten starke Spuren der Mäusebisse.

Am 19. Oktober gelang es, in dem mit Korn angefüllten Teile der „Koschara“ von allen hier ausgelegten Teigklümpchen nur noch wenige, innen ausgenagte, eingetrocknete Klümpchen zu finden. Die großen Teigkugeln, welche auf der Oberfläche des Kornes ausgelegt waren, erwiesen sich innen auch stark von den Mäusen ausgenagt. An diesem Tage, d. h. am zweiten Tage nach der Infektion der „Koschara“, sind auf der Oberfläche des Kornes 3 tote Mäuse angetroffen worden. Die bakteriologische Untersuchung einer derselben ergab in den Petrischen Schalen Reinkulturen des Bacillus.

Am 6. Tage nach der Infektion hatte der Wächter bei Besichtigung der Oberfläche des Kornes 5 frische Leichen gefunden. 5 Stunden danach sind von mir ebendasselbst 9 tote und 4 kaum kriechende Mäuse gefunden worden.

Am 9. Tage nach der Infektion der „Koschara“ hat der Wächter in der Nähe der Schober und der „Koschara“-Wände 150 tote Mäuse eingesammelt. Leider hat er bei Einsammeln der Leichen ganz außer acht gelassen, daß es nötig war, die in der Nähe der „Koschara“ gefundenen von denen, welche er in der Nähe der Schober vorfand, abzusondern; er warf sie alle in einen Haufen zusammen. Bei meiner Ankunft war von diesem Haufen keine Spur mehr zurückgeblieben: Hunde hatten sich auf ihn geworfen und ihn gänzlich aufgefressen. 4 Stunden später fand ich während der Besichtigung in der „Koschara“ auf dem Korn 151 Leichen und 2 kaum kriechende Mäuse. Bei einigen Leichen war die Schädeldecke weggenagt und ein Teil der Eingeweide ausgefressen. In der anderen Abteilung der „Koschara“, welche kein Korn enthielt, sind 31, neben der „Koschara“ 6, in der Nähe der Heu- und Spreuschober, bei flüchtiger Besichtigung derselben, 10 Leichen gefunden worden. Im ganzen wurden an diesem Tage 348 Leichen und 2 kaum kriechende Mäuse eingesammelt.

Höchst wahrscheinlich ist die eigentliche Zahl der an diesem Tage gestorbenen Mäuse eine bedeutend größere gewesen, doch war in der „Koschara“ das Aufsuchen derselben mit solchen Schwierigkeiten verknüpft, daß sehr leicht einige der Leichen übersehen werden konnten. Bei jedem Schritt versank man bis zum Knie ins Korn, auf dessen Oberfläche die Leichen der Mäuse lagen, und war gezwungen, obgleich der Tag sonnig war, die zu untersuchende Fläche mit einer trüben Laterne zu beleuchten. Nicht wenige Leichen befanden sich gewiß auf dem Dache, welches, wie bereits erwähnt, von Mäusen wimmelte, doch für die Untersuchung unzugänglich war. Endlich waren besonders aus den Schobern viele Leichen für die Untersuchung verloren gegangen, weil die schwer kranken Mäuse, ohne auch nur im geringsten auf die nahe Gefahr zu achten, nach der frischen Luft herauskrochen, wo sie sehr rasch von Raubtieren vernichtet wurden. Die Hartnäckigkeit, mit welcher

die Jagd auf solche Mäuse von den Raubtieren ausgeführt wurde, war geradezu auffallend; so kümmerten sich die Habichte, welche sich sonst durch große Vorsicht auszeichnen, gar nicht um unsere Gegenwart und faßten ihre Beute zuweilen in 3—4 Schritt weiter Entfernung von uns. Ueberhaupt hatte sich die Zahl der Raubtiere auf der Tenne vom 8.—9. Tage an nach der Infektion plötzlich ungemein vergrößert; vor der Infektion aber traf ich ihrer hier fast gar keine an.

Vom 10. Tage nach der Infektion an war in der „Koschara“, in welcher, wie gesagt, das Korn, die Wände und das Dach von dem gedämpften Mäusegepiepe und Geräusche, das aus Tausenden von Stellen herklang, wie lebend erschienen, jetzt eine auffallende Stille eingetreten, welche nur dann und wann von einzelner Aufpiepen unterbrochen wurde. Diese Umwandlung war dermaßen rasch eingetreten, daß sie unwillkürlich allen Besuchern der „Koschara“ auffiel.

Bei der Besichtigung des Kornes am 22. November, d. h. am 36. Tage nach der Infektion, sind auf dessen Oberfläche 26 vollkommen frische Leichen gefunden worden, was auf ein Fortdauern der Epizootie hinwies.

Im Dezember wurde die Gerste, welche in der „Koschara“ aufbewahrt wurde, in die Meierei des Gutes übergeführt. Bei dem Reinigen der Gerste ist ein halber Mattensack voll Mäuseleichen eingesammelt worden. Der Weizen, auf dem immer mehr tote Mäuse gefunden wurden als auf der Gerste, blieb für den Winter in der „Koschara“, obgleich man vor der Infektion die Absicht hatte, um ihn vor den Mäusen zu retten, ihn an einen anderen Ort überzuführen. Im Januar mußte ich die Gegend verlassen und erhielt erst weitere Nachricht über das Schicksal der Mäuse in der „Koschara“ am 9. März in einem Briefe von Herrn v. Skadowsky, in welchem er mir folgende freundliche Mitteilung macht: „Der Weizen hat glücklich überwintert. Mäuse (lebendige) haben wir dort (d. h. in „Kamennijja Koscharii“) nicht gesehen, auf den Ackerfeldern dagegen waren dieselben während des ganzen Winters in Unmenge vorhanden.“

In dem hier beschriebenen Infektionsversuche treten die einzelnen Fakta nicht mit genügender Deutlichkeit hervor, um aus ihnen irgend welche Schlüsse zu ziehen, doch erhalten sie, wie weiter gezeigt werden soll, einen gewissen Wert, wenn wir sie mit den Resultaten vergleichen, welche ich bei dem Versuche erhalten habe, Mäuse in Schobern zu infizieren, der von mir in Gegenwart der Kommission von der Chersoner Landsmannschaft angestellt wurde, zu dessen Beschreibung ich daher jetzt übergehe.

Der in Gegenwart der Kommission vorgenommene Versuch, Schober zu infizieren, fand am anderen Ende des Gutes des Herrn v. Skadowsky statt, in der sogenannten Herberge „Glinitsche“ (in der Nähe des Dorfes „Bjeloserki“), welche von dem früher beschriebenen „Kamennijja Koscharii“ einige Kilometer weit entfernt war.

Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn v. Skadowsky wurden für den Versuch speziell 4 Schober aus frischer Gerstenspreu aufgestellt, in welchen man beim Dreschen absichtlich einen Teil des Kornes zurückgelassen hatte. Die Schober waren alle von einer Form und Größe. Ein jeder von ihnen hatte eine parallelepiped-ähnliche Gestalt und maß der Länge nach 6,4 m, in der Breite 3,2 m und die Höhe betrug 3,5 m. Die Schober sind zueinander parallel, in einem Abstand von 3,2 m, aufgestapelt worden. Um in dieselben das Uebersiedeln einer möglichst

großen Anzahl Mäuse zu sichern, hat man den Platz für sie in 10 m weiter Entfernung von der Dreschmaschine und in nächster Nähe von Schobern aus Getreide gewählt, welches während der ganzen Zeit ihres Aufstapelns gedroschen wurde. Nach Beendigung des Dreschens sind die für den Versuch bestimmten Schober sowohl voneinander als auch von den übrigen auf der Tenne befindlichen Schobern mittels besonderer 1 m hohen Umzäunungen aus Eisenblech isoliert worden, welche bis zur Hälfte ihrer Höhe (d. h. 0,5 m) in die Erde vertieft waren. Die Umzäunung eines jeden Schobers stand in einer 1,5 m weiten Entfernung von der Basis desselben ab. Der obere Rand einer jeden Umzäunung trug als Dach einen unter gewissem Winkel gebogenen Streifen aus Eisenblech, so daß der Vertikalschnitt derselben an einen mit der Spitze nach oben gerichteten Pfeil erinnerte.

Die Undurchdringlichkeit dieser Umzäunungen sogar für solche Mäuse, welche durch Hunger bis aufs äußerste gereizt waren, ist durch vorher angestellten Kontrollversuch bewiesen worden. Zu diesem Zwecke habe ich auf die beschriebene Weise eine 4,6 qm messende, glatt gereinigte Erdfäche eingezäunt und da hinein 20 eben gefangene, zu verschiedenen Arten gehörige Mäuse gesetzt, denen ich jegliche Nahrung entzog. Während der ersten Tage waren die Versuche der Mäuse, den Bann der Gefangenschaft zu brechen, äußerst energisch. Zuerst probierten sie, über die Umzäunung zu springen; die besten Springer erreichten zuweilen den oberen Rand der Umzäunung, stießen sich aber an den dachförmigen Streifen und fielen wieder herunter. Als endlich die vernünftigeren Individuen zur Einsicht kamen, daß solche Sprünge vollkommen zwecklos sind, fingen sie an, unterirdische Gänge zu graben; doch auch dieses Bemühen brachte ihnen keinen Erfolg, denn die Gänge wurden entweder dicht an der Umzäunung oder in sehr naher Entfernung derselben angelegt, so daß sie sehr bald auf deren unterirdischen Teil stießen und daher von den Mäusen wieder verlassen wurden. Schließlich sind auch diese Fluchtversuche verworfen worden. Die Mäuse, schien es, haben beschlossen, sich ihrem Schicksale zu fügen. Sie sammelten sich zu einem Haufen in einer der Ecken und nur selten verließ eine oder zwei die übrigen Genossinnen, um wieder mit Verzweiflung entweder das Springen oder das Graben von Gängen fortzusetzen, doch jetzt geschah das bloß ruckweise und vollkommen sinnlos. Der eben beschriebene Kontrollversuch dauerte eine Woche und keine einzige Maus konnte die Umzäunung passieren.

In den Schobern, obgleich dieselben erst einige Tage vor Beginn des Versuches aufgestapelt wurden, waren schon zahlreiche Oeffnungen von Mäusegängen zu bemerken und solch Gepiepe und Geräusch hörbar, welches die Gegenwart einer großen Menge Mäuse daselbst annehmen ließ.

Weder ich noch die Arbeiter haben je auf der Tenne tote Mäuse angetroffen.

Die Infektion der Schober wurde begonnen am 19. November um 3 Uhr nachmittags. Wie im vorher beschriebenen Falle, so auch jetzt, diente zu derselben ein Teig, bestehend aus 1 Teil Kultur und 2 Teilen Roggenmehl. Für 2 Schober, No. I und No. II, wurde das Mehl mit der Bouillonkultur vermengt, für die beiden anderen dagegen, No. III und No. IV, wandte ich eine Kultur mit billigerem Nährsubstrat an, welches aus einem Dekokt pflanzlicher Substanzen und Melasse bestand.

Aus dem Teig wurden größere Klumpen präpariert, denen man

schon am Orte der Infektion hasel- bis walnußgroße Stückchen entnahm und in die Mäuselöcher stopfte.

Auch hier konnte man wie in den „Kamennijja Koscharii“ immerwährend beobachten, wie die Mäuse gierig nach den Teigklümpchen griffen und dieselben in ihre Löcher schleppten, ohne sich durch die Gegenwart der Menschen dabei stören zu lassen.

Für jeden Schober wurden 2 l Kultur verbraucht.

Schon am folgenden Tage, d. h. am 20. November, wiesen viele Teigklümpchen Spuren von Mäusezähnen auf. Bei meinem nächsten Besuch der Schober, am 26. November, waren die meisten Klümpchen verschwunden. An demselben Tage sind außerhalb der Schober 26 Leichen und eine kaum noch lebende Maus gesammelt worden¹⁾. Letztere saß an der Einzäunung mit halbgeschlossenen Augen, gesenktem Haupte und gesträubtem Haar. Rührte man sie an, so machte sie wackeligen Ganges ein paar Schritte und setzte sich dann wieder hin; in kurzer Zeit war sie schon tot. Einige Leichen waren am Kopfe oder am Bauche angegagt; es erwiesen sich aber viele als vollkommen heil. Eine tote Maus ist auf der Oberfläche des Schobers in sitzender Lage am Eingange des Schlupfloches gefunden worden.

Am 10. Tage nach der Infektion wurden die Schober No. I (infiziert mit Bouillonkultur) und No. IV (infiziert mit der Kultur in Pflanzendekokt) auseinander genommen, um zu bestimmen, wie viele Mäuse in ihnen der Seuche unterlagen. Der 10. Tag wurde dazu gewählt, um zu bestimmen, ob nicht vielleicht die Zeit der größten Sterblichkeit unter den im Freien, folglich bei natürlichen Verhältnissen lebenden Mäusen, auf den 8.—9. Tag fällt, wie das bei den Versuchen im Laboratorium beobachtet wird.

Vor dem Auseinandernehmen der Schober unterwarfen wir die Oberfläche der Erde in der Nähe der Umzäunungen einer genauen Untersuchung, doch waren weder innerhalb noch außerhalb derselben unterirdische Gänge zu finden, längs welcher die Mäuse hätten aus den Schobern heraus oder in dieselben hinein gelangen können.

Zum Auseinandernehmen der Schober wurden in jede Umzäunung 3 Arbeiter gestellt. Dieselben nahmen die Spreu in kleinen Quantitäten mit Holzgabeln und, um sie von lebendigen Mäusen zu befreien, schüttelten sie die Spreu innerhalb der Umzäunung, bevor sie dieselbe hinauswarfen. Infolgedessen sprangen die in ihr versteckten Mäuse heraus und flüchteten in den noch unangerührten Teil des Schobers. Bei dem Hinauswerfen der Spreu aus der Umzäunung wurde dieselbe in die Luft geschleudert, um sie durchzuwehen und dabei die toten Mäuse abzusondern. Mehrere Arbeiter, welche außerhalb der Umzäunungen aufgestellt waren, scharrtten die fallende Spreu in einen Haufen zusammen, wobei sie dieselbe sorgfältig durchmusterten. Diese Arbeit wurde beaufsichtigt von den Mitgliedern der Kommission, den agronomischen Inspektoren aus 6 Kreisen des Chersonschen Gouvernements, dem Verwalter des Skadowskyschen Gutes, Herrn Kuschtschinsky, und mir.

1) Nämlich: In der Nähe des Schobers No. I 8, No. II 9, No. III 6, No. IV 4 Leichen (darunter die kaum lebende Maus). Die ersten Leichen sind am 22. Nov. von den agronomischen Inspektoren beobachtet worden (eine bei dem Schober No. I, eine bei No. III und eine bei No. IV), welche zu diesem Zwecke die Schober täglich besuchten.

3 lebende Mäuse sind dabei zufällig entlaufen und konnten nicht wieder eingefangen werden.

Nach dem Öffnen der Schober schritt man zur Bestimmung der Infektionsresultate; hierzu wurden sowohl die toten, beim Durchwehen der Spreu abgesonderten, als auch die noch lebenden, in dem umzäunten Räume zurückgelassenen Mäuse einer Zählung unterworfen.

In dem Schober No. I (infiziert mit Bouillonkultur) erwiesen sich 260 tote Mäuse (die 8 früher außerhalb des Schobers gefundenen mitgerechnet) und 20 lebende (die 3 entlaufenen einbegriffen). Der Schober No. IV (infiziert mit Kultur in Pflanzendekokt) enthielt 214 tote (die 4 früher außerhalb des Schobers gefundenen und die am Tage der Untersuchung aufgehobene eine tote sind hier mitgezählt) und 56 lebende Mäuse.

Unter den toten Mäusen waren meistens die Hausmäuse (*Mus domesticus* s. *musculus*) vorhanden. Bei einigen fehlte die Schädeldecke und die Eingeweide waren ausgefressen. Mehrere lebende Mäuse hatten das Aussehen von schwerkranken, die übrigen schienen vollkommen gesund zu sein.

Die Schober No. II (infiziert mit Bouillonkultur) und No. III (mit Kultur in Pflanzendekokt) sind auf dieselbe Art am 15. Tage nach der Infektion untersucht worden. Dieser Termin wurde darum gewählt, weil in den Laboratoriumsversuchen die Mäuse nie später als am 12. Tage starben; folglich müßten wir auch in den Schobern zu dieser Zeit, wenn die im Laboratorium erhaltenen Ergebnisse hier anwendbar sind, das eklatanteste Bild der Infektionswirkung beobachten. Da es aber möglich war, daß nicht alle Mäuse gleichzeitig am 1. Tage von dem infizierten Teige gefressen haben, so gaben wir noch 3 Tage hinzu.

Die Untersuchung der genannten Schober ergab folgende Resultate: Im Schober No. II (infiziert mit Bouillonkultur) sind 223 tote (in dieser Zahl auch die früher außerhalb desselben aufgesammelten) und 10 lebende Mäuse gefunden worden; im Schober No. III (infiziert mit Kultur in Pflanzendekokt) 159 tote (die früher außerhalb desselben aufgehobene mitgerechnet) und 15 lebende Mäuse.

Einige tote Mäuse zeigten fehlende Schädeldecke und aufgefressene Eingeweide, von anderen wieder waren nur einzelne Teile vorhanden, wie z. B. nur der Kopf oder das Fell, ausgekehrt wie ein Handschuh, mit herausragenden langen Knochen der Glieder oder dergleichen anderes. Viele Leichen waren jedoch ganz heil, wobei einige sogar die sitzende, zusammengekauerte Pose der kranken Maus, mit festen, eitervollen Augen beibehalten hatten.

Fassen wir die Ergebnisse der Untersuchungen aller 4 Schober in eine Tabelle zusammen, so erhalten wir folgendes Bild:

Bei der Untersuchung der Schober am 10. Tage nach der Infektion sind gefunden:

In Schober No I (Bouillonkultur)	}	tote Mäuse	260
		lebende Mäuse	20
		macht aus 92,9 Proz. Sterbefälle.	
In Schober No. IV (Kultur in Pflanzendekokt)	}	tote Mäuse	214
		lebende Mäuse	56
		macht aus 79,3 Proz. Sterbefälle.	

Bei der Untersuchung am 15. Tage nach der Infektion sind gefunden:

In Schober No. II (Bouillonkultur)	{	tote Mäuse	213
		lebende Mäuse	10
		macht aus 95,7 Proz. Sterbefälle.	
In Schober No. III (Kultur in Pflanzendekokt)	{	tote Mäuse	159
		lebende Mäuse	15
		macht aus 91,4 Proz. Sterbefälle.	

Vergleichen wir jetzt die Resultate der Untersuchungen gleichnamiger Schober (d. h. No. I mit No. II; No. IV mit No. III) am 10. und am 15. Tage nach der Infektion, so ersehen wir, daß bis zum 15. Tage die Zahl der Sterbefälle nur um ein geringes gestiegen ist; dieser Zuwachs für Schober No. II im Vergleich zum Schober No. I (beide mit Bouillonkultur infiziert) bildet 2,8 Proz.; für Schober No. III im Vergleich zum Schober No. IV (beide mit Kultur in Pflanzendekokt infiziert) 12,1 Proz. Dieses Verhältnis weist darauf hin, daß die Sterblichkeit, besonders in den Schobern, welche mit Bouillonkultur infiziert waren, vor dem 10. Tage ihren Höhepunkt erreicht hatte, da aber eine starke Verminderung des Gepiepses und Geräusches in den Schobern vom Abend des 26. November, d. h. am 8. Tage nach der Infektion, eintrat, so muß man annehmen, daß auch hier, wie in den Versuchen im Laboratorium, die Sterblichkeit nach 8—9 Tagen nach der Infektion am größten war.

Bei dem Vergleichen der Prozentsätze der Sterbefälle in den Schobern No. I und No. II, welche mit Bouillonkultur infiziert waren, mit den Prozentsätzen der Sterbefälle in den Schobern III und IV, welche mit der Kultur in Pflanzendekokt infiziert waren, sehen wir, daß bei der Infektion der Mäuse mit Bouillonkultur die Wirkung derselben schneller eintritt, als bei Infektion mit der Kultur in Pflanzendekokt, obgleich weiterhin dieser Unterschied allmählich geringer wird; so war die Differenz am 10. Tage 13,6 Proz., am 15. Tage nur 4,3 Proz. Augenscheinlich hängt dieses von einer gewissen Schwächung der Virulenz der Pflanzendekoktkulturen ab, was sich aber weniger in der Verminderung des Prozentsatzes der Sterbefälle, als in deren späterem Eintreten äußert. Die erwähnte schwächere Virulenz der Pflanzendekoktkulturen ist wahrscheinlich durch die schwächere Nährkraft dieses Substrates hervorgerufen worden. In solchen Kulturen findet nie eine so starke Entwicklung (Trübung der Flüssigkeit) statt, wie in der Bouillon.

Endlich ersehen wir auch aus derselben Tabelle, daß noch am 15. Tage nach der Infektion im Schober No. II 4,3 Proz. und im Schober No. III 8,6 Proz. lebende Mäuse vorhanden waren, obgleich wir bei den Versuchen im Laboratorium nie ein späteres Sterben der infizierten Mäuse, als am 12. Tage zu konstatieren hatten.

Dieser Widerspruch konnte eventuell ganz zufällig entstanden sein: Er konnte z. B. davon abhängen, daß einige Mäuse aus irgend einem Grunde entweder gar nicht oder verspätet mit dem Infektionsmaterial in Berührung gekommen sind, andererseits konnte aber der Grund auch darin liegen, daß die Krankheit bei diesen Mäusen einen chronischen Verlauf angenommen hat, oder sogar darin, daß die betreffenden Tiere gegen die Einwirkung der Kultur völlig unempfindlich waren.

Die letztere Voraussetzung erschien in praktischer Hinsicht von ganz besonderem Interesse, da bei der Annahme, daß die Immunität sich vererben kann, früh oder spät solch eine Rasse von Mäusen entstehen mußte, auf welche der in Rede stehende Bacillus gar keinen Einfluß haben wird.

Zur Aufklärung aller eben angeführten Voraussetzungen mußten die Mäuse in den Umzäunungen zurückgelassen und daselbst weiter beobachtet werden, wobei sorgfältig auf die eintretenden Sterbefälle aufzupassen war, um ein weiteres Verbreiten der Seuche durch das Fressen der Leichen zu verhüten. 12 Tage nach der Entfernung der letzten unbeschädigten Leiche auftretende Sterbefälle würden, da der normale oder sozusagen akute Krankheitsprozeß, wie wir es an anderen Orte gesehen haben¹⁾, nicht länger als 12 Tage dauert, auf einen chronischen Verlauf der Krankheit hinweisen.

Sollten aber im Verlauf von 1—2 Monaten überhaupt keine Sterbefälle eintreten und die bakteriologische Untersuchung einiger zur Probe genomener Mäuse ein negatives Resultat ergeben, so müßten die Tiere, zur Entscheidung der Frage über eventuell vorhandene Immunität, einer neuen Infektion unterworfen werden.

Doch war dieses Untersuchungsprogramm schwerlich ausführbar, denn die Mäuse befanden sich in den Spreuhaufen, welche ihnen in den Umzäunungen gelassen waren und aus denen ein rechtzeitiges Entfernen der Leichen um so weniger wahrscheinlich war, als dies sogar aus den Käfigen bei weitem nicht immer gelingt. In Anbetracht dessen ist beschlossen worden, sich nur mit der Lösung der Frage über das Vorhandensein einer Immunität zu begnügen.

Zu diesem Zwecke sind die Spreuhaufen von der Zeit an, wo sie aufgeschüttet waren, gar nicht untersucht worden, so daß die in ihnen befindlichen toten Mäuse zur weiteren Verbreitung der Seuche dienen konnten; außerdem sind am 5. Dezember in die betreffenden Spreuhaufen große Klumpen Teig (infiziert mit Bouillonkultur) ausgelegt worden.

Bei unserem Besuche am 14. Dezember erfuhren wir, daß am 5. Dezember, bald nachdem wir uns entfernt, die Teigklumpen von Hunden weggeschleppt worden sind, welche der Wächter nicht rechtzeitig zurückhalten konnte, es blieb daher vollkommen unbekannt, ob die Mäuse von dem infizierten Teig schon gefressen hatten oder nicht. Da aber die an diesem Tage unternommene Untersuchung der Spreuhaufen 46 tote Mäuse ergab²⁾, so beschlossen wir, mit einer neuen Infektion nicht zu eilen.

Bei den nächsten, am 19. Dezember unternommenen Untersuchung der Haufen fanden wir jedoch nur 13 tote Mäuse, dann am 24. und 29. Dezember nur je 2, wobei jedesmal auch abgenagte Leichen vor kamen.

Da die Periode des schlechten Wetters und der dunklen Nächte eintrat, so wurde beschlossen, sie zwecks neuer Infektion aus den Umzäunungen herauszufangen und ins Laboratorium zu transportieren.

Es wurden hier im ganzen 20 lebendige Mäuse gefunden³⁾. Den 24. Dezember nahm ich 4 von denselben zur bakteriologischen Untersuchung; ich fand aber in ihrer Leber und Milz keine Mikroorganismen. Folglich war das Vorhandensein einer chronischen Form der Krankheit sehr zu bezweifeln.

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Abt. I. Bd. XVII. 1895. No. 21.

2) Erwähnenswert ist, daß einer der Haufen ein Nest mit 2 lebenden, noch blinden und unbehaarten kleinen Feldmäusen enthielt.

3) Eigentlich hätten 35 Mäuse vorhanden sein müssen, folglich sind 15 verloren gegangen; ob dieselben von Raubtieren oder von ihren Genossinnen gefressen worden sind, bleibt unentschieden.

Am 29. Dezember starb aber eine Maus; die bakteriologische Untersuchung ihrer Organe ergab eine Reinkultur des Bacillus, also war die Infektion noch nicht gelöscht. Leider war die Leiche dieser Maus schon angenagt, weshalb man weitere Todesfälle abwarten mußte, was auch wirklich stattfand.

Den 6. Januar, d. h. am 9. Tage darauf, starb die zweite Maus. Man hatte sie aber erst dann bemerkt, als schon ein Teil des Halses und des Kopfes weggenagt war. Die Infektion zog sich auf diese Art bis zum 13. Februar, wo es gelang, durch rechtzeitiges Entfernen der toten ihrer Dauer ein Ende zu machen. In dieser Zeit starben 7 Mäuse in Zwischenräumen von nicht mehr als 12 Tagen. Hiernach wurden im Verlauf von 2 Monaten keine Sterbefälle mehr konstatiert. Da nun infolgedessen das Vorhandensein einer chronischen Krankheitsform ganz unwahrscheinlich wurde, so konnte man entweder annehmen, daß unter den nachgebliebenen 7 Mäusen die Quelle der Seuche versiegt war, oder aber, das diese Mäuse für ihre Einwirkung überhaupt nicht empfänglich sind.

Diese Frage konnte durch eine neue Infektion entschieden werden, welche auch am 2. Mai 1895 um 4 Uhr 30 Minuten nachmittags ausgeführt wurde. Zu diesem Zwecke legte man in den Käfig 4 Teigkugeln, bereitet aus Roggenmehl und Bouillonkultur, welche ich aus St. Petersburg versandt hatte. Die Resultate dieses Versuches sind folgende:

Maus	No.	1	starb am	5.	Tage nach der	Infektion
"	No. 2	"	"	6.	"	"
"	No. 3	"	"	6.	"	"
"	No. 4	"	"	7.	"	"
"	No. 5	"	"	8.	"	"
"	No. 6	"	"	9.	"	"

Maus No. 7 ist am Leben geblieben und erhielt, da sich bei ihr einen ganzen Monat hindurch keine Krankheitserscheinungen zeigten, am 3. Juni wieder vom infizierten Teig, welcher mit 2 ccm Bouillonkultur angemacht war. Sie starb nach dieser Infektion am 7. Tage.

Auf solche Weise sind alle 16 Mäuse der Infektion unterlegen und die Frage über eventuell vorhandene Immunität negativ beantwortet, natürlich bei Ausschluß der Voraussetzung, daß die Mäuse infolge der Gefangenschaft im Käfige ihre Unempfindlichkeit der Krankheit gegenüber eingebüßt haben; solch eine Voraussetzung wäre aber kaum hinreichend begründet.

Es bleibt nur ganz unbegreiflich, warum sich diese Mäuse in den Schobern nicht infiziert haben, da die Klümpchen des Infektionsteiges noch bei dem zweiten Auseinandernehmen der Schober gefunden wurden. Aehnlichen Fakta begegnete ich zuweilen auch im Laboratorium, besonders dann, wenn in einem Käfige viele Mäuse saßen; der Fall mit der Maus No. 7 zeigt uns ein gleiches Beispiel. Ob das durch übermäßige Vorsicht solcher Mäuse, oder durch Aversion gegen den Teig, oder durch irgendwelche andere Gründe bedingt wird, bleibt unbekannt. In praktischer Hinsicht haben diese Fälle keine Bedeutung, denn solche Mäuse fressen, wie wir sahen, sehr gerne die Leichen ihrer hingschiedenen Genossinnen, folglich unterliegen auch sie der Einwirkung der Infektion. Wenn dieses in den Versuchen an den Schobern nicht beobachtet worden ist, so hängt es nur davon ab, daß die toten Mäuse entfernt wurden.

Vergleichen wir die Schoberinfektion mit den in „Kamennija Koscharii“ erhaltenen Infektionsresultaten, so erschen wir, daß sie

im allgemeinen miteinander übereinstimmen. Wie in dem einen, so auch in dem anderen Falle begann die Sterblichkeit am 2.—3. Tage nach der Infektion und erreichte, den Resultaten der Schoberuntersuchung und der raschen Abnahme des Mäusegepiepses und Geräusches wie in den Schobern, so auch in der „Koschara“ nach zu urteilen, ihren Höhepunkt am 8.—9. Tage.

In den „Kamennijja Koscharii“, wo der Versuch ohne jeglichen Eingriff unsererseits verlief, gelang es außerdem noch, einige interessante Seiten zu bemerken. So fanden wir z. B. noch am 36. Tage nach der Infektion 26 ganz frische Leichen auf der Oberfläche des Kornes. Ihre Gegenwart konnte auf Grund oben angeführter Erwägungen, nicht als Resultat eines chronischen Verlaufes der Krankheit erklärt werden, sondern man mußte annehmen, weil immer (in der „Kaschara“, in den Schobern und bei den Feldversuchen) Leichen mit solchen Verletzungen angetroffen wurden, welche zu beobachten sind, wenn die Leichen von lebenden Mäusen gefressen werden, daß die lange Dauer der Epizootie in dem Fressen der Leichen seitens der gesunden Mäuse, welche dadurch infiziert wurden, ihren Grund hatte. Von diesem Standpunkte aus betrachtet, wird es begreiflich, warum es gelungen ist, trotz der geringen Quantität des angewandten Infektionsmaterials ein günstiges Resultat zu erhalten.

Andererseits geben die in „Kamennijja Koschara“ gemachten Beobachtungen eine Aufklärung, warum die Epizootie in ihrer Verbreitung gewisse Grenzen hat. Wir sahen, daß dieses abgelegene Landstück, welches vor der Infektion nur sehr selten von Raubtieren besucht wurde, angefangen vom 8.—9. Tage nach der Infektion, d. h. von der Zeit des Eintrittes der größten Sterblichkeit, dieselben in außerordentlich großer Menge anzog. Als Lockspeise dienten augenscheinlich die schwer kranken Mäuse, welche infolge ihrer geringer Beweglichkeit und ihres Bestrebens, in die frische Luft herauszukriechen, in großer Menge von den Raubtieren gefressen wurden; da nun die kranken Mäuse, nachdem der infizierte Teig verzehrt war, als einzige Infektionsträger dienten, so wurden auf solche Art die Todfeinde der Mäuse zu ihren Lebensrettern.

Unser Wunsch, die Kultur des in Rede stehenden Bacillus zur Vertilgung der Mäuse, welche zu der Zeit in Unzahl über das Chersonsche Gouvernement verbreitet waren, anzuwenden, stieß aber auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Zu diesem Zwecke müßte man während der 3 Monate, welche noch bis zum Frühjahr übrig blieben, selbst bei minimalster Berechnung (zu 1 l Kultur auf 1 ha), täglich zu 2,500 Dekaliter Kultur bereiten. Eine derartige Aufgabe erforderte ein höchst zahlreiches Personal von Fachmännern und war außerdem mit kolossalen Ausgaben, besonders für den Transport der Kulturen bis zum Bestimmungsort, namentlich zur Zeit der herbstlichen schlechten Wege, verbunden, welche zu erschwingen der Landschaft geradezu unmöglich war.

Zur Beseitigung der Schwierigkeiten konstruierte ich einen besonderen Apparat, mit dessen Hilfe man auf automatischem Wege und ohne Hilfe von Fachmännern große Mengen Reinkulturen beliebiger Mikroorganismen bereiten kann. Doch diesen Apparat praktisch zu verwenden, gelang mir erst dann, als die Mäuseplage schon zu Ende war und keine Notwendigkeit mehr zu solcher Anwendung der Kultur vorlag.

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der Natur der Hühnerseuchen.

[Laboratorium für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der
Kgl. Hochschule von Turin (Vorstand: Prof. E. Perroncito).]

Mitteilung von Dr. **Dante Calamida**, Assistenten.

Bis vor wenigen Jahren wurde von der Mehrzahl der Forscher und der Praktiker angenommen, daß jede Form von Hühnerseuche immer durch den sogenannten „Bacillus der Hühnercholera“ bedingt würde, der von Perroncito (1) entdeckt und von Pasteur und Toussaint so gut untersucht wurde.

Da aber einige Formen beobachtet wurden, welche sich, sei es betreffs der pathologisch-anatomischen Läsionen, sei es betreffs der Resultate der bakterioskopischen Untersuchung, von der typischen klassischen Form der echten Cholera unterschieden, so entstand die Vermutung, daß es neben dieser Seuche noch andere von verschiedenen Mikroorganismen erzeugte gäbe.

Schon 1892 fand Lisi (2) bei einer in Massa-Carrara entstandenen Seuche im Blute und in den Eingeweiden der gestorbenen Tiere einen beweglichen Mikroorganismus, welcher weder auf Agar noch auf Kartoffeln gezüchtet werden konnte, und welcher, mit Ausnahme der Mäuse, alle Versuchstiere, wie auch Hühner, Falken, Enten tötete.

Zwei Jahre später, 1894, beschrieb Perroncito (3) eine Infektionsform, bei welcher nicht immer aus dem Blute der spezifische Mikroorganismus isoliert werden konnte, welcher sich von einer doppelten Größe als diejenige der echten Hühnercholera erwies, eigentümliche kulturelle Eigenschaften besaß und für Hühner ganz wenig pathogen war.

Im Jahre 1899 beschäftigten sich verschiedene Beobachter mit der Frage gelegentlich einer in Piemont und der Lombardei entstandenen Viehseuche.

Mazza (4) beschreibt einen größeren Mikroorganismus, als derjenige der Cholera, welcher nie im Blute gefunden wird, während er in den parenchymatösen Säften konstant ist, fast keine pathogene Wirkung für die Kaninchen und die Spatzen hat, während er sie für die Hühner besitzt.

Foà und Cesaris-Demel (5) beschreiben einen aus dem Darminhalt und nie aus dem Blute isolierbaren Mikroorganismus, pathogen für Hühner, nicht aber für Meerschweinchen und Kaninchen, welcher während er Gram widerstand, wenn er direkt aus dem Darm entnommen wurde, sich entfärbte, wenn er aus den frischen Kulturen entnommen war.

Abba (6) konnte niemals irgend einen Mikroorganismus isolieren, während er die Krankheit bei gesunden Hühnern dadurch hervorrufen konnte, daß er ihnen das Blut gestorbener Hühner einspritzte oder deren Eingeweide fressen ließ.

Zenoni und Belfanti (7) beschrieben einen Mikroorganismus, welcher sich nie im Blute und in den Eingeweiden findet, aber immer im perikardialen Exsudat vorhanden ist. Pathogen für Hühner, wenig aber für Kaninchen und für Tauben.

Im Jahre 1900 beschreibt Brusaferrero (8) einen Coccus, der immer in den Eingeweiden und im Darminhalt, nie im Blute vorhanden

ist. Diese Kokken sind nicht färbbar und weisen eine unregelmäßige, vielleicht vieleckige (?) Form auf. Derselbe tötet die Hühner, wenn er unter die Haut und per os eingeführt wird, er ist unschädlich für Tauben und Kaninchen.

Wie aus diesem kurzen Bericht leicht zu ersehen ist, ist das Problem trotz der zahlreichen Beobachtungen weit davon entfernt, gelöst zu werden, und sehr wahrscheinlich waren alle verschiedenen Mikroorganismen abgeschwächte Formen der echten Hühnercholera oder auch sie waren Mikroorganismen verschiedener Natur, welche das richtige, spezifische Agens einfach begleiteten.

Ein neues Licht wurde auf diese so umstrittene Frage durch die Beobachtungen von Centanni und Savonuzzi (9), von Maggiora und Valenti (10), Ostertag und Wolffhügel (11) und hauptsächlich durch die sorgfältigen später angestellten Untersuchungen von Centanni (12) geworfen.

Seit einigen Jahren ist ein neues Kapitel zu unseren Kenntnissen über die Aetiologie der Infektionskrankheiten hinzugekommen, jenes, welches sich auf das Studium der sogenannten unsichtbaren Mikroorganismen des durchfiltrierenden Virus bezieht.

Für die Ochsenperipneumonie, für die Aphtha epizootica, für die Hors Sickness, für die Schafpocken etc. wurde nachgewiesen, daß wir mit unseren Beobachtungsmittel das spezifische Agens weder sehen noch züchten können, da es von einer solchen Kleinheit ist, daß es durch die Poren der Chamberlandschen und Berkefeldschen Kerzen durchdringen kann.

In analoger Weise konnten die zitierten Verfasser nachweisen, daß in diesen Seuchenformen, bei welchen man den echten Bacillus der Hühnercholera nicht findet, die Flüssigkeiten des Organismus und die Säfte der Eingeweide, obwohl sterii, nach der Filtrierung die Erkrankung wieder erzeugen können, wenn sie auch außerordentlich verdünnt sind.

Obwohl diese Untersuchungen schon verschiedene Bestätigungen erfahren haben, halte ich es doch nicht für unnütz, mitzuteilen, was ich gelegentlich einer kleinen, in Turin und in der Umgebung vor zwei Monaten entstandenen Viehseuche beobachten konnte.

Die in Rede stehende Seuche nahm keinen allzu malignen Charakter an, und die Tiere starben mit Erscheinungen von Erregung und Schwindel, und dem Tod gingen Tobsuchtsanfälle vorher, welche die Tollheit nachahmten, die den Tieren sehr hohe Sprünge machen ließ; bei einigen Hühnern beobachtete man auch Wendung des Kopfes nach hinten.

Pathologisch-anatomische Untersuchung.

Bei der äußeren Untersuchung nichts Erhebliches; die Farbe des Kammes und des Bartes war, im Gegensatz zu dem, was bei der echten Hühnercholera beobachtet wird, in der Mehrzahl der Fälle normal.

Lungen, Leber, Milz und Nieren normal. Das Herz bot aber fast immer in dem Koronarienringe zahlreiche und sehr feine Petechien und Sugillationen dar, welche sich auch häufig in dem ersten Teil des Kropfes befanden; reichliche perikardiale Flüssigkeit und verdicktes Pericardium.

Der Darm zeigte ein verschiedenes Aussehen je nach der Krankheitsdauer; wenn diese lang gewesen war, war die Duodenumschlinge hyperämisch, das Rectum hämorrhagisch, die Blindsäcke sehr erweitert und mit Blutgerinnseln erfüllt; solche Läsionen wurden manchmal von

einer schwachen Peritonitis begleitet. Wenn die Krankheitsdauer dagegen kurz gewesen war, war der Darm schwach anämisch.

Ovarium und Ovidukte hyperämisch, Eier manchmal stark rot gefärbt. Gehirn normal.

Mikroskopische Untersuchung.

Im Blute, in der Leber, Milz, in den Nieren, im Gehirn ist es immer unmöglich gewesen, das Vorhandensein irgend eines Mikroorganismus nachzuweisen, trotzdem ich alle bekannten Färbungsmittel angewendet habe. Auch die Untersuchung des frischen Blutes und der Organsäfte ließ nie irgend einen Mikroorganismus nachweisen.

Bakteriologische Untersuchungen.

Alle von mir aus dem Blute, den inneren Organen angestellten Kulturen blieben immer steril. Die aëroben und anaëroben Kulturen wurden bei Zimmertemperatur und bei 37° in Agar, glyceriniertem Agar, glukosiertem Agar, Agar und Blut, Pferd- und Hühnerbouillon, glycerinierter Bouillon, Gelatine und Blutserum ausgeführt.

Versuche an den Tieren.

Die ausgewählten Tiere waren Hühner und Kaninchen. Bei dem Kaninchen war der Ausfall immer negativ. Bei den Hühnern trat infolge der Einimpfung von infizierendem Material immer der Tod ein, der von Tier zu Tier in verschiedener Zeit auftrat, wie es sich aus der folgenden Tabelle ergibt:

Tabelle No. 1.

Folgezahl	Datum	Impfungs-ort	Menge und Qualität des Virus	Erfolg	Beobachtungen
1.	2. April 5 Uhr nachm.	Unter die Haut	2 ccm von nicht filtriertem Blut	den 6. April 5 Uhr nachm. gestorben	
2.	16. April 10 ³⁰ vorm.	Unter die Haut	1 ccm Blut, das der am 16. April 10 Uhr vorm. gestorbenen Henne No. 4 entnommen wurde	den 24. April 2 Uhr nachm. gestorben	
3.	25. April 9 ³⁰ vorm.	Unter die Haut	2 ccm Blut, das der am 25. April 9 Uhr vorm. gestorbenen Henne No. 7 entnommen wurde	den 29. April 7 Uhr morgens gestorben	

Nachdem auf diese Weise nachgewiesen worden ist, daß das Blut der von mir untersuchten Hühner die Krankheit wieder erzeugte, obwohl bei der mikroskopischen Untersuchung kein Mikroorganismus zu sehen war und die Kulturen steril blieben, wollte ich sehen, ob die von mir untersuchte Viehseuche ähnliche Charaktere hätte, wie diejenige, welche *Maggiore* und *Valenti*, *Centanni* u. a. beobachteten, d. h. von einem unsichtbaren Mikroorganismus bedingt würde. Zu diesem Zweck zerrieb ich sorgfältig mit Glaspulver die Leber, das Herz und die Milz von drei spontan gestorbenen Hühnern, verdünnte mit physiologischer Kochsalzlösung, so daß ich ca. 500 ccm von Flüssigkeit erhielt, filtrierte durch Watte, Papier und schließlich durch eine Chamberlandsche Kerze mit sehr dichten Poren.

Die nach dem Filtrieren erhaltene Flüssigkeit auf den gewöhnlichen Nährboden überpflanzt, brachte keine Entwicklung irgend eines Mikroorganismus hervor; den Hühnern aber eingespritzt, verursachte sie den Tod der injizierten Tiere binnen verschiedener Zeitperioden, je nach der Art der Einimpfung, wie die folgende Tabelle zeigt:

Tabelle No. 2.

Followe-zahl	Datum	Einimpfungsort	Menge und Qualität des Virus	Erfolg	Beobachtungen
4.	4. April 6 Uhr nachm.	Unter die Haut	10 ccm aus dem Herzen, Leber und Milz entnommener und durch Chamberlandsche Kerze filtrierter Flüssigkeit	den 16. April 10 Uhr vorm. gestorben	
5.	idem	idem	5 ccm Flüssigkeit wie oben	den 19. April 8 Uhr vorm. gestorben	
6.	idem	Peritonealhöhle	10 ccm Flüssigkeit wie oben	den 19. April 11 Uhr nachm. gestorben	
7.	idem	per os	Mit derselben filtrierten und mit Kleie gemischten Flüssigkeit	den 25. April 9 Uhr vorm. gestorben	
8.	idem	idem	idem	lebt noch	Zeigte keine Krankheitserscheinung
9.	8. April 10 ³⁰ vorm.	in die Venen	3 ccm von durch Chamberlandsche Kerze filtriertem Blut	den 11. April 6 Uhr nachm. gestorben	
10.	idem	Brustmuskeln	3 ccm von filtriertem Blut wie oben	den 11. April 4 Uhr nachm. gestorben	

Zur Kontrolle wollte ich auch mit dem Blut und den Organsäften der Tiere Versuche anstellen, welche infolge der Injektionen mit filtriertem Material gestorben waren. Das Resultat ist sehr verschieden gewesen, wie aus der Tabelle 3 (p. 41) zu ersehen ist.

Auf Grund der oben mitgeteilten Versuchen glaube ich, daß kein Zweifel darüber möglich ist, daß die von mir untersuchte Viehseuche von einem unsichtbaren Mikroorganismus bewirkt wird, welcher die Eigenschaft besitzt, die Porzellanfilter zu durchdringen.

Obwohl wir die Charaktere und die Eigenschaften dieses Mikroorganismus natürlich nicht kennen, gerade wegen seiner äußersten Kleinheit und der Unmöglichkeit, denselben zu züchten, so glaube ich doch, daß die von mir beobachtete Krankheit derjenigen von Centanni gleich ist, und dies aus verschiedenen Gründen:

1) Wegen der im Leben beobachteten Erscheinungen (Tobsuchtsanfälle, Schwindel etc.), welche zweifellos an die von Centanni untersuchten Läsionen in den Ohrbogengängen gebunden sind.

2) Wegen einiger Eigenschaften des von mir untersuchten Virus, vor allem derjenigen, sich in keinem Nährboden vermehren zu können.

Ich habe den Versuch von Centanni bei der Vermehrung des

Tabelle No. 3.

Folgezahl	Datum	Impfungsort	Menge und Qualität des Virus	Erfolg	Beobachtungen
11.	13. April 11 Uhr vorm.	Brustmuskeln	10 ccm von Blut, welches aus den zwei, am 11. April durch den Versuch gestorbenen Hennen stammte, mit Zusatz von ClNa und durch Chamberlandsche Kerze filtriert.	den 16. April 4 Uhr nachm. gestorben	
12.	idem	per os	Mit einer aus der obigen Flüssigkeit und Kleie bestehenden Speise	lebt	Kein Krankheitssymptom
13.	idem	idem	wie oben	lebt	idem
14.	23. April 11 Uhr vorm.	Brustmuskeln	10 ccm Flüssigkeit den am 19. April (s. Tab. 2) gestorbenen Hennen 5 und 6 entnommen und filtriert	lebt	idem
15.	idem	per os	Mit derselben filtrierten Flüssigkeit wie oben, mit Kleie gemischt	lebt	idem

unsichtbaren Mikroorganismus in den langen U-Röhren etwas verändert; ich habe Erlenmeyersche Kolben dazu benutzt, welche seitwärts auf ihrer Basis eine kugelförmige Anschwellung hatten, welche mit dem Kolben durch eine kurze, dünne Glasröhre verbunden war.

Wenn der Apparat mit verschiedenen Nährböden und unter anderen mit dem Auszuge von nicht durch Hitze sterilisierten, sondern bloß durch eine Kerze filtrierten normalen Organen angefüllt war, wurde das infizierende Material auf die Oberfläche der in den Erlenmeyerschen Kolben enthaltenen Flüssigkeit gebracht; die Kolben wurden bei 37° oder bei Zimmertemperatur gehalten. Nach verschiedenen Tagen wurde die Flüssigkeit aus dem kugeligen Ansatz aspiriert und den Hühnern injiziert, welche nie irgend ein Krankheitssymptom zeigten, und so wurde nachgewiesen, daß im Gegensatz zu anderen unsichtbaren Mikroorganismen (Peripneumonie der Ochsen) die Vermehrung des spezifischen Keimes nicht erzielt wird.

Eine von mir beobachtete Eigentümlichkeit ist die der raschen Abschwächung des Virus gewesen; nach wenigen Uebertragungen hatte dasselbe seine pathogene Wirksamkeit beinahe vollkommen verloren, und dies war der Grund, weshalb ich andere Beobachtungen über die Widerstandsfähigkeit des Virus gegen physikalische und chemische Agentien, über die von ihm im Organismus erzeugten Läsionen nicht zu Ende bringen konnte, was ich mir sofort zu tun vorbehalte, sobald ich im Besitze von neuem Material sein werde.

Turin, den 2. Juni 1903.

Literatur.

- 1) Perroncito, E., L'epizoozia tifoide dei polli. [Die Typhoidseuche der Hühner.] (Annali d. R. Accad. di Agricolt. di Torino. 1878.)
- 2) Lisi, G., Di una setticemia virulenta nei polli della provincia di Massa e Carrara. [Ueber eine virulente Hühnerseptikämie in der Provinz Massa und Carrara.] (La clinica veterinaria. 1895. No. 12. p. 177.)
- 3) Perroncito, E., Intorno ad una «epizoozia tifoide» dell pollame, che non è il cholera dei polli, dei gallinacei palmipedi e colombi. [Zur Kenntnis einer „Typhoid-viehseuche“ der Hühner, welche nicht die Cholera der Hühner, Schwimmvögel, Tauben ist.] (Giorn. della R. Accad. di Medicina di Torino. An. LVII. 1894. No. 4—5. p. 245.)
- 4) Mazza, C., Ricerche batteriologiche intorno alla recente epizoozia dei polli. [Bakteriologische Untersuchungen über die neue Hühnerseuche.] (Riv. d'Igiene e San. pubbl. An. X. 1899. No. 11.)
- 5) Foà und Cesaris-Demel, Sulla recente epizoozia dei polli in vari paesi del Piemonte. [Ueber die neue Hühnerseuche in verschiedenen Gegenden von Piemont.] (Giorn. d. R. Accad. d. Torino. Vol. LXVII. An. LXII. Fasc. 5. 1899. p. 253.)
- 6) Abba, Giorn. d. R. Accad. di Medicina di Torino. An. LXII. 1899. p. 182—186.
- 7) Belfanti, S. e Zenoni, C., Sulla recente epizoozia dei polli in Lombardia. [Ueber die neue Hühnerseuche in der Lombardei.] (Giorn. d. R. Accad. d. Medicina di Torino. An. LXII. 1899. No. 17. p. 533.)
- 8) Brusaferrò, S., Un' epizoozia dei polli nelle provincie di Parma e Reggio. [Eine Hühnerseuche in den Provinzen von Parma und Reggio.] (La clinica veter. 1901. No. 5. p. 49.)
- 9) Centauni, E. e Savonuzzi, E., La peste aviaria. [Die Vogelpest.] (1. u. 2. Mitt. bei der Accad. delle Scienze mediche e naturali di Ferrara. 9 Marzo e 4 Aprile 1901.)
- 10) Maggiora e Valenti, Su una epizoozia di tifo essudativo dei gallinacei. [Ueber eine Seuche von exsudativem Typhus bei Hühnern.] (Accad. d. Medicina di Modena. Giugno 1901.)
- 11) Ostertag, R. und Wolffhügel, R., Untersuchungen über die Hühnerpest. (Monatshefte f. prakt. Tierheilk. Bd. XIV. Heft 2.)
- 12) Centauni, Die Vogelpest. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. etc. Abt. I. Bd. XXXI. p. 145—182.)

*Nachdruck verboten.***Ueber Toxone.**Von **N. Swellengrebel**, Amsterdam.

Beim Studium der Diphtherietoxine entdeckte Ehrlich, daß die Toxine keine einheitlichen Körper, sondern aus zwei Komponenten zusammengesetzt seien: 1) dem eigentlichen Toxin, welches das typische Krankheitsbild hervorruft, und 2) dem sogenannten Toxon, das die Nachkrankheiten, wie Marasmus und Paresen, verursacht. Diese Toxone unterscheiden sich von den Toxinen durch ihre geringere Affinität zu den Antitoxinen. Es gelang Ehrlich, die Toxone von den Toxinen (im engeren Sinne) zu scheiden. Er benutzte dabei folgende Methode: Erstens bestimmte er die Menge von Antitoxin, die nötig war, um eine bestimmte Giftdosis unschädlich zu machen. Danach spritzte er dem Versuchstiere dieselbe Dosis ein, aber mit wenig Antitoxin, z. B. nur $\frac{9}{10}$ der ursprünglichen Menge. Anstatt daß jetzt, wie man erwarten würde, $\frac{9}{10}$ der letalen Dosis neutralisiert worden waren, ging die Neutralisation sprunghaft vor sich. Das Toxin (im engeren Sinne) hatte kraft seiner größeren Affinität alle Antitoxine gebunden und nur das Toxon war zurückgeblieben.

Mit der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie kann dieses Phänomen

natürlich sehr gut erklärt werden, aber man ist gezwungen, dabei zwei Arten von Toxinen anzunehmen, jede mit sicheren haptophoren und toxophoren Gruppen. Diese Unterscheidung kann, glaube ich, mittels einer kleinen Aenderung dieser Theorie eliminiert werden und so zu einer großen Vereinfachung führen.

In diesem Centralblatt (Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. No. 3) spricht Eisenberg über die Bindung von Toxinen und Antitoxinen und im allgemeinen über die Bindung der Immunkörper und ihrer antagonistischen Stoffe. Er kommt zu dem Schlusse, daß je nach der Konzentration, der eine oder der andere Stoff diejenige mit der geringsten Konzentration diejenige mit der größten Konzentration in Uebermaß an sich binden, sich damit übersättigen wird. Außerdem kommt er zu dem Schluß, daß die Verbindung des Toxins mit dem Antitoxin niemals vollkommen sei. Mittels eines übersensiblen Tieres konnte nachgewiesen werden, daß in einem solchen Gemisch freies Toxin sowie freies Antitoxin zu finden ist.

Zu demselben Schlusse kamen auch Danysz und Bordet. Die Erklärung, welche diese 3 Autoren über dieses Phänomen geben, ist verschieden. Während Eisenberg dies dadurch erklärt, daß er annimmt, die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin sei reversibel — welche Erklärung auch am meisten auf rein chemischen Grundsätzen beruht — geben Danysz und Bordet eine kompliziertere Erklärung. Sie nehmen an, daß, wenn man zu einer bestimmten Quantität Toxin eine Quantität Antitoxin hinzufügt, die ungenügend zur Neutralisation dieser Quantität Toxin — und natürlich auch umgekehrt — ist, nicht ein Teil des Toxins neutralisiert wird und der Ueberschuß ungebunden zurück bleibt, sondern daß das Antitoxin sich gleichmäßig über das Toxin verteilt, dermaßen, daß im Gemisch kein freies Antitoxin, aber auch kein intaktes Toxin zu finden sei. Je weniger Antitoxin an das Toxin gebunden ist, desto toxischer wird das letztere wirken. Das gleichzeitige Vorhandensein ungesättigten Toxins und Antitoxins erklärt dann zugleich, warum ein Gemisch von Toxin und Antitoxin so oft zu gleicher Zeit toxische und antitoxische Wirkung ausüben kann. Mit der größeren oder geringeren Sättigung des Toxins (oder Antitoxins) ändert sich, wie Bordet annimmt, auch die Qualität des Toxins, und so erklärt Bordet die Entstehung der Toxone.

Eisenberg bringt Einwände gegen diese Theorie vor. Er sagt, es sei gegen das allgemeine Immunitätsgesetz, wonach ein Gift nur kraft seiner Affinität zu den Körperelementen seine toxische Wirkung entfalten kann, anzunehmen, daß ein Toxin, welches sich schon mit Antitoxin verbunden hat, noch toxische Wirkung ausübt. Wenn ein Toxin sich mit einem Antitoxin verbunden hat, so muß es entgiftet sein. Wenn man die Bindung an Toxin nicht mit Entgiften gleichsetzt, so müsse man wieder die alte Ansicht anerkennen, daß das Antitoxin das Toxin direkt zerstöre, oder man müßte „eine mystische neutralisierende Kraft“ postulieren. Man könne auch annehmen, die neutrale Toxin-Antitoxin-Verbindung würde kraft der Affinität der Toxine zu den Körperelementen gesprengt. Dieses könnte aber nur in vivo geschehen, und das Bordetsche Phänomen findet auch in vitro statt. Außerdem würde sich beim letzten Vorgang freies Antitoxin vorfinden, was gegen die Danysz-Bordetsche Annahme spricht.

Die Aenderung in der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie, welche ich vorschlagen will, hebt, glaube ich, diese Einwände vollkommen auf.

Die Ehrlichsche Theorie postuliert das Toxinmolekül mit einer toxophoren und haptophoren Gruppe. Ein Antitoxinmolekül genügt also, um das Toxin zu neutralisieren. Mit dieser Vorstellungsweise gelingt es aber nicht, die Danysz-Bordetsche Theorie in Einklang zu bringen, und die Eisenbergschen Einwände sind vollkommen schlagend. Man denke sich jetzt aber das Toxinmolekül mit mehreren haptophoren Gruppen, indem man immer nur eine toxophore Gruppe annimmt, welche die Giftwirkung beherrscht. Die haptophoren Gruppen muß man sich völlig identisch denken, jede haptophore Gruppe entspricht einem Rezeptor der Körperzelle, diese Rezeptoren sind also auch völlig identisch. Ist das Toxin an die Zelle gebunden, so hat sich jede haptophore Gruppe an einen Rezeptor gebunden. Die Zelle wird also defekt und sondert dieselben Rezeptoren in Uebermaß ab, sie werden dadurch abgestoßen. Weil die Rezeptoren aber identisch sind, macht es nichts aus, ob sie durch Bindung der einen oder der anderen haptophoren Gruppe entstehen; man bekommt doch schließlich ein einheitliches Antitoxin. Um das Toxin, wie es hier vorgestellt ist, neutralisieren zu können, ist es nötig, daß alle haptophoren Gruppen verankert werden. Hierzu ist natürlich mehr als ein Antitoxinmolekül nötig. Man kann sich jetzt vorstellen, daß bei Toxinübermaß nicht alle haptophoren Gruppen verankert werden. Mit den anderen freien haptophoren Gruppen können die Toxine also noch z. B. Antitoxinproduktion in Tätigkeit setzen oder bei übersensiblen Tieren toxische Erscheinungen hervorrufen. Wenn man jetzt aber die Sache von einer anderen Seite besieht, bemerkt man, daß diese Theorie noch komplettiert werden muß. Man muß sich vorstellen, daß sich am Antitoxin auch mehrere haptophore Gruppen befinden, aber weniger, wie am Toxin, und wohl in bestimmter Proportion. Wenn das Antitoxin $m \cdot n$ haptophore Gruppen hat, muß das Toxin $m \cdot n + (n - 2)$ oder $m \cdot n + (n - 1)$ haptophore Gruppen haben. (Worin m und n ganze, positive, aber übrigens willkürliche Zähler sind.) Ein Beispiel wird dieses klar machen: Ein Toxin hat acht haptophore Gruppen und das zugehörige Antitoxin hat drei solcher Gruppen und das Toxin ist im Ueberschuß da. Ein oder zwei Moleküle Antitoxin können sich an das Toxin binden, es bleiben also resp. fünf oder zwei haptophore Gruppen frei. Wenn das Antitoxin in Ueberschuß da ist, so verbinden sich drei Moleküle Antitoxin mit einem Toxinmolekül und es bleibt eine haptophore Gruppe des Antitoxins frei. Die Verbindung hat dann antitoxische Wirkung. Ein Gemisch dieser beiden Verbindungssysteme hat also toxische wie antitoxische Wirkungen.

Durch diese Anschauungsweise sind jetzt, wie ich glaube, die Einwände Eisenbergs beseitigt. Man kann sich ein teilweise neutralisiertes Toxin sehr gut vorstellen, ohne dabei mit dem allgemeinen Immunitätsgesetz in Zwiespalt zu geraten. Natürlich ist Zerstörung des Toxins oder eine neutralisierende Kraft auch nicht mehr notwendig.

Wie Bordet dieses schon tat, kann man jetzt annehmen, daß je nach dem Sättigungsgrad des Toxins mit dem Antitoxin die Eigentümlichkeiten des Toxins sich auch quantitativ ändern können. Das völlig freie Diphtherietoxin wird die Erscheinungen hervorrufen, welche diese Krankheit kennzeichnen, das teilweise neutralisierende Toxin verursacht die Nachkrankheiten. Es ist also nach dieser Anschauung überflüssig, ein appartes Toxin — im Sinne Ehrlichs — anzunehmen, dieses ist nichts anderes als ein teilweise neutralisiertes Toxin. Weil nun noch ein Teil seiner haptophoren Gruppe frei ist, kann es viel weniger Anti-

toxin binden, wie das völlig intakte Toxin. Dieses stimmt auch bekanntlich mit der Eigenschaft der Toxone, weniger Affinität zu den Antitoxinen zu haben, wie die Toxine. Eine andere Eigenschaft, daß ein Stoff, welcher auf das eine Tier noch als Toxin wirkt, auf ein anderes Tier als Toxon wirkt, stimmt mit dieser Anschauung auch gut überein, weil man nur anzunehmen braucht, es genüge bei Tier A noch die haptophore Gruppe, um ein Toxin noch wie ein Toxin wirken zu lassen, indem beim Tier B bei derselben Menge haptophorer Gruppen das Toxin schon die Eigentümlichkeiten eines Toxons adoptiert hat.

Diese kleine Aenderung der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie hat also, neben etwas mehr Komplikation, den Vorteil einer ziemlich großen Vereinfachung, weil man es jetzt nur mit einem Körper zu tun hat. Außerdem ist diese Aenderung auch wirklich sehr gering. Die Ehrlich'sche Verteilung der Rezeptoren in drei Ordnungen bleibt wie sie war, nur eine Definition ändert sich ein wenig. Man würde unter Rezeptoren der ersten Ordnung nicht solche verstehen mit nur einer haptophoren Gruppe, aber mit völlig gleichen haptophoren Gruppen, im Gegensatz zu den Rezeptoren der dritten Ordnung, welche ungleiche (cytophile und komplementophile) Rezeptoren haben.

Zum Schlusse bitte ich, vorstehendes nicht als eine Kritik aufzufassen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit.

[Aus dem kgl. bakteriologischen Institute Camara Pestana zu Lissabon ¹⁾.]

Mitteilung der von dem Marineminister zum Studium der Schlafkrankheit entsandten Kommission, bestehend aus Drs. **Annibal Bettencourt**, **Ayres Kopke**, **Gomes de Bezende** und **Correia Mendes**.

Mit 1 Tafel und 4 Kurven.

Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit sind die verschiedensten Hypothesen aufgestellt worden.

Eine der ältesten ist diejenige, welche die Schlafkrankheit der Unzulänglichkeit der Ernährung und dem Gebrauch verdorbener Nahrungsmittel zuschreibt. Clark war dieser Meinung; er und Corre waren mit unter den ersten, die sich mit dieser Krankheit befaßt haben. Uebermäßige Anstrengungen, sowie Heimweh sind des öfteren als Ursachen angesehen worden, aber, nach Rey, von verschiedenen Autoren in recht verschiedener Weise. Das Auftreten der Krankheit bei jungen Kindern wäre allein genügend, um jene Hypothese zu entkräften.

Guérin erklärte sie für eine passive Kongestion der Hirnhäute.

Der Mißbrauch der Kolanuß (*Sterculia acuminata*), der Gebrauch des Haschisch, Ammenorrhöe, geschlechtliche Excesse, Sonnenstich sind ebenfalls für die Schlafkrankheit verantwortlich gemacht worden.

Dem in Afrika außerordentlich verbreiteten Alkoholmißbrauche ist für die Aetiologie der Schlafkrankheit besonders große Bedeutung beigegeben worden. Wir haben viele Kranke gesehen, besonders Kinder,

1) Diese Arbeit ist die Wiedergabe eines Teiles unseres (französisch geschriebenen) amtlichen Berichtes, der in kurzem veröffentlicht werden wird.

die nie Brantwein getrunken hatten. Corre hat die Krankheit bei Individuen getroffen, die zu religiösen Sekten gehörten, deren Anhänger nur Wasser trinken (Marabuts).

Es ist überflüssig, hier über den Wert dieser Hypothesen, welche die älteren Pathologen mangels genauerer Kenntnisse aufstellten, viele Worte zu verlieren; sicher ist jedenfalls, daß einige von jenen Ursachen prädisponierende Bedeutung haben, insofern sie den Organismus schwächen oder seine natürliche Verteidigungskraft herabsetzen.

Der Gebrauch des indischen Hanfs mit oder ohne Tabak muß als Krankheitsursache gänzlich außer Betracht bleiben. Wie wir auf unserer Reise feststellen konnten, hatten die meisten von der Krankheit ergriffenen Angolosen niemals Liamba (indischen Hanf) geraucht. Auf der Insel Principe kommt die Pflanze überhaupt nicht vor, obgleich die Krankheit dort sehr häufig ist.

Palmy, der Analogieen zwischen der Schlafkrankheit und der Gefügelcholera gefunden hat, glaubt, daß beiden Krankheiten dieselbe Ursache zu Grunde liegen könne. Die Hypothese des Marinearztes Pereira do Nascimento, der seit mehreren Jahren in Angola mit naturgeschichtlichen Studien beschäftigt ist und der die Krankheit einer langsamen Vergiftung durch in der rohen Maniokwurzel enthaltene Blausäure zuschreibt, entbehrt, wie wir glauben, jeder Begründung.

Pereira do Nascimento hat sich über seine Ansicht ausführlich geäußert; wir kennen jedoch von seinem Berichte nur den nachstehenden Auszug, der in einer Arbeit von Maia Leitão veröffentlicht ist. Er lautet wörtlich:

„Diese Gegend ist durch die Schlafkrankheit fast gänzlich entvölkert worden. In den Bezirken Cazengo und Ambaca zeigt die Krankheit einen erschreckenden Charakter; in kurzer Zeit verschwinden ganze Dörfer, und der Schaden, den sie den Plantagenbesitzern durch das Hinsterben ihrer Arbeiter zufügt, ist unberechenbar.

Man hat über die Natur der Krankheit viel gesagt und geschrieben; unter den Pathologen gilt sie für eine durch Mikroben hervorgerufene Seuche und hervorragende Aerzte der französischen Kolonie halten sie für zweifellos ansteckend. Ohne hier weiter darauf einzugehen, weil ich mich in einer späteren Veröffentlichung speziell mit dem Gegenstand zu beschäftigen beabsichtige, möchte ich doch eine bescheidene Meinung äußern, die allerdings der weiteren Bestätigung durch Tatsachen, Beobachtungen und Analysen bedarf. Für mich ist die Schlafkrankheit ganz einfach eine langsame Vergiftung durch die in der Maniokwurzel enthaltene Blausäure. In Brasilien hat man schon lange erkannt, daß die Maniokwurzel eine ansehnliche Menge jenes heftigen Giftes enthält, und daß es, um sie für den menschlichen Genuß brauchbar zu machen, nötig ist, sie durch Röstung davon zu befreien. Das durch verschiedene Fabrikationsweisen gewonnene Mehl, welches für ganze Teile der Bevölkerung die Basis der Ernährung bildet, heißt Farinha de pau (Holzmehl). In Brasilien existieren genaue Vorschriften für die Herstellung des Mehles, die von den Fabrikanten peinlich innegehalten werden; ihr Zweck ist die Entfernung der Blausäure.

In Afrika, wo der Maniok ebenfalls zahlreichen Teilen der Bevölkerung als Hauptnahrungsmittel dient, sind die Verfahren zur Mehlerbereitung sehr unvollkommen und keines von denen, die ich dort gesehen habe, sichert die vollständige Austreibung der tödlichen Blausäure. Die Neger verzehren in unmäßigen Mengen rohen Maniok; ohne jegliche Vorbereitung nehmen sie ein Nahrungsmittel zu sich, das wegen der Gegenwart eines der heftigsten und schnellst wirkenden Gifte ungemein gefährlich ist. Diese Tatsache ist allen bekannt, und ich stelle hiermit fest, daß die Neger unseres Distriktes nach rohem Maniok sehr gierig sind, vielleicht wegen des Geschmacks nach bitteren Mandeln. Meines Erachtens ist diese Vorliebe die Ursache der ungeheueren Sterblichkeit.

In Cazengo und Ambaca lassen die Eingeborenen, ob alt oder jung, ob frei oder angestellt, nicht einen Tag hingehen, an dem sie nicht eine beträchtliche Menge rohen Manioks zu sich nehmen. In Südamerika ist die Ueberzeugung von der Giftigkeit des rohen Manioks derart eingewurzelt, daß er weder von Menschen verzehrt noch auch den Tieren gegeben wird. Dagegen findet man unter den Eingeborenen von Afrika

und nicht einmal unter den meisten dort lebenden Europäern irgendwelche Kenntnis von der Anwesenheit der Blausäure in der Maniokwurzel.

Die Tatsachen, auf die sich meine Meinung stützt, sind folgende:

1) Die Schlafkrankheit ist häufig bei denjenigen Negerstämmen, die sich hauptsächlich von Maniok ernähren (mittlere und nördliche Zone von Angola).

2) Die Krankheit kommt bei den Stämmen, die sich von Cerealien (Mais, Sorgho und Hirse) mit völligem Ausschluß von Maniok ernähren, nicht vor; diese Stämme wohnen in mehr als 1000 m Meereshöhe, wo der Maniok nicht gedeiht (einige Zonen im Süden von Angola, Hochplateaux von Benguela und Mossamedes, Malange und Duque de Bragança).

3) Unter den Bevölkerungen, die weder rohen noch verarbeiteten Maniok genießen, kommen bisweilen Fälle von Schlafkrankheit bei nicht autochthonen Negern vor, die sich von Maniok ernähren.

In Portugiesisch-Guinea kennen viele Stämme den Maniok nicht; bei ihnen kommt die Schlafkrankheit nicht vor, z. B. nicht bei den Fulas, Beufadas, Mandingas, während die Einwohner von Cap Verde und die aus Angola gebürtigen Soldaten, die sich von Maniok ernähren, häufig Opfer der Schlafkrankheit werden.

4) Der Symptomenverlauf der Krankheit ist ganz und gar derselbe wie bei der Blausäurevergiftung; allgemeine und zunehmende Schwäche, heftige, beständige Kopfschmerzen, Ausdehnung der Pupille, Unbeweglichkeit der Augenlider und der Augäpfel etc. — Es genügt, einen Hund mit rohem Maniok zu füttern, um bei ihm alle diese Symptome auftreten zu sehen.

5) Die makroskopischen Läsionen, die ich bei einigen, im Jahre 1885 an angolischen Soldaten in Guinea gemachten Sektionen gefunden habe, wie Diffluenz und Blutung der Rindenmasse des Gehirns und der Milz, Atrophie der Leber, sind dieselben, die bei der langsamen Vergiftung mit Blausäure beobachtet werden.“

Wir können zu dem, was Pereira do Nascimento sagt, zuerst bemerken, daß der Gebrauch des rohen Manioks in Afrika in einem ungleich größeren Gebiete verbreitet ist als die Schlafkrankheit. Außerdem wird die Existenz endemischer Herde und das Umsichgreifen der Krankheit durch die von jenem Autor gegebene Aetiologie in keiner Weise erklärt. Was die in dem Maniok enthaltene beschuldigte Substanz, die Cyanwasserstoffsäure, anbetrifft, so ist es schwer, zu begreifen, daß ein Gift von so rascher und energischer Wirkung die Ursache einer so schleichenden Krankheit sein sollte, wie es die Schlafkrankheit ist. Entgegen den Angaben von Pereira do Nascimento ist der Symptomenkomplex der Schlafkrankheit von demjenigen der Blausäurevergiftung vollständig verschieden: Die heftigen und anhaltenden Kopfschmerzen, die Erweiterung der Pupille, die Unbeweglichkeit der Augenlider und Augäpfel, die man als Folge der Vergiftung mit Blausäure vorfindet (der akuten, nicht der chronischen Vergiftung, wie P. d. N. annimmt), sind bei der Schlafkrankheit keineswegs regelmäßige Erscheinungen. Uebrigens fehlt das charakteristische Symptom der Krankheit, die Schlagsucht. Nach der Art, wie Pereira do Nascimento sich ausdrückt, scheint es die leichteste Sache von der Welt zu sein, beim Hunde die Schlafkrankheit hervorzurufen, indem man ihn mit rohem Maniok ernährt. Es ist bedauerlich, daß der Autor keine Einzelheiten über die von ihm gemachten Versuche gibt, die seine Hypothese bewiesen hätten. Uns selber scheint die Leichtigkeit, die Krankheit bei Tieren hervorzubringen, sehr sonderbar, denn, wie in den betreffenden Gegenden allgemein bekannt ist, werden nur Neger und Mulatten von ihr ergriffen, während die Haustiere, die gewöhnlich in enger Berührung mit ihnen leben, verschont bleiben.

Die makroskopischen Läsionen, die der Autor bei Sektionen von Negern in Guinea gesehen haben will, und die er für identisch mit den durch eine langsame Blausäurevergiftung hervorgerufenen ansieht, sind uns niemals begegnet.

Wenn es wahr ist, wie Pereira do Nascimento wiederholt her-

vorhebt, daß die Eingeborenen von Cazengo und Ambaca rohen Maniok in Uebermaß genießen, so ist nicht weniger richtig, daß der Bezirk Ambaca unter den östlich von Loanda liegenden Landesteilen einer der am wenigsten heimgesuchten ist. Es wurden eigentlich nur die aus Quissama kommenden Plantagenarbeiter von der Schlafkrankheit ergriffen. Auf der Insel Principe dagegen, wo man rohen Maniok kaum genießt, ist die Schlafkrankheit unter allen Schwarzen häufig, und am Cap Verde umgekehrt, wo der rohe Maniok häufig verzehrt wird, existiert sie nicht. Wie soll man auch begreifen, daß die Schlafkrankheit sich in Cazengo vor 1874 nicht gezeigt hat, während der Gebrauch, rohen Maniok zu essen, jedenfalls viel älter ist?

Man muß danach schließen, daß der Genuß des rohen Manioks nicht die wahre *causa nocens* ist. Anderenfalls wäre es notwendig, anzunehmen, 1) daß es verschiedene Varietäten von Maniok gibt, einige giftige, andere ungiftige; 2) daß sie je nach den Vegetationsbedingungen mehr oder wenige große Quantitäten des giftigen Prinzips enthalten; 3) daß sie vielleicht die parasitären Erkrankungen heimgesucht und dadurch den Menschen schädlich werden. Aber selbst, wenn man all dies annimmt, gibt es Tatsachen, die sich damit nicht erklären lassen. So hat man uns Kranke aus dem Innern von Angola geschickt, die sich erst im Anfangsstadium der Krankheit befanden, nur Anschwellungen der Ganglien, aber noch keine Schlafsucht zeigten, und deren Fieberanfälle sich nur in langen Zwischenräumen wiederholten, während bei den Frauen allerdings die Menstruation schon unterdrückt war. Diese Kranken wurden in das Hospital zu Loanda aufgenommen, wo es ihnen unmöglich war, rohe Maniokwurzeln zu erhalten; von dort wurden sie nach Lissabon gebracht und hier machten sich nach Verlauf einiger Monate alle die schweren Symptome der Krankheit traurig fühlbar. Zwei von den Kranken leben noch (Dezember 1902); in Lissabon haben alle weder rohen noch zubereiteten Maniok bekommen können. Man kann nicht verstehen, wie nach einer so langen Periode der Entziehung des beschuldigten Nahrungsmittels die Krankheit sich mit ihrem ganzen Symptomenkomplex und tödlichen Ausgange ebenso entwickelt haben sollte wie bei den Kranken, welche der beständigen und zunehmenden Wirkung der giftigen Substanz ausgesetzt sind.

Man könnte uns einwerfen, daß in Anbetracht der Geringfügigkeit der Symptome zur Zeit der Einlieferung in das Hospital es sich überhaupt nicht um Schlafkrankheit gehandelt hat. Aber dann ist sie erst recht durch Ansteckung erworben worden und nicht durch Vergiftung vermittelt irgend einer genossenen Substanz.

Wir haben ganz kürzlich Gelegenheit gehabt, einen bemerkenswerten Fall zu beobachten, der mit der größten Schärfe zeigt, wie unwahrscheinlich die Hypothese von Pereira do Nascimento ist. Ein Neger, von der Insel Principe gebürtig, Sohn von Dahomeleuten, lebt seit 6 $\frac{1}{2}$ Jahren in Lissabon; er ist mit 5 Jahren hierher gekommen und nicht wieder in Afrika gewesen; seitdem er hier ist, hat er niemals Maniok gegessen. Dieser Junge hat seit ungefähr 1 Jahre angefangen, Symptome zu zeigen, nach denen man sicher Schlafkrankheit diagnostiziert hätte, wenn eine so lange Inkubationszeit nicht unnatürlich erschienen wäre. Gegenwärtig zeigt er starke und vielfache Anschwellungen der Ganglien, Zittern und Springen der Muskeln, Schlafsucht, starke geistige Depression, bisweilen Unmöglichkeit, sich aufrecht zu erhalten, Jucken, ohne daß Hautverletzungen sichtbar wären, Minder-

druck in den Arterien, kurz das typische Symptomenbild der Schlafkrankheit. Natürlich studieren wir diesen Fall vom ätiologischen Standpunkte aus mit größtem Interesse. Was wir schon jetzt mit aller Sicherheit sagen können, ist, daß eine Vergiftung durch Maniok als Krankheitsursache vollständig ausgeschlossen ist.

Ein großer Teil der Beobachtungen und Erkundigungen, die wir auf unserer Reise gesammelt haben, gestattet uns den Schluß, daß die Schlafkrankheit im allgemeinen nicht mit Störungen im Nervensystem beginnt, sondern daß diese erst infolge von augenscheinlichen Veränderungen im Lymphsysteme auftreten. Ein derartiger Verlauf der Krankheit deutet mehr auf eine Infektion als auf eine Vergiftung hin.

Der frühzeitige Angriff auf das Lymphsystem und die spätere Störung des Nervensystems würden sehr gut die lange sogenannte Inkubationszeit erklären, die in Wirklichkeit die latente Form der Krankheit ist. Während dieser Periode spielt sich ein Kampf zwischen Organismus und den pathogenen Keimen ab, dessen Folgen erst später in den klassischen Symptomen zum Vorschein kommen und zu der irrigen Meinung führen, daß die Krankheit erst dann beginne.

Da diese Periode gewöhnlich ziemlich lange dauert, so ist es begreiflich, daß kein Fall von Schlafkrankheit in der frühesten Kindheit beobachtet worden ist. In der Tat ist es möglich, daß mit diesem Alter die ganglionäre Lokalisation der Krankheit zusammenfällt. Es wäre also nur scheinbar, daß die Schlafkrankheit ganz junge Kinder verschont, so daß die auffallende Tatsache, daß die Keime Kinder nicht angreifen — sonst einer der Haupteinwürfe gegen die parasitäre Theorie — hinlänglich aufgeklärt erscheint.

Auf der anderen Seite ist die Unmöglichkeit der Vergiftung durch Nahrungsmittel bei Säuglingen, die bis zum 2. oder gar bis zum 3. Jahre mit Muttermilch ernährt werden, für unsere Fälle von Angola durchaus nicht absolut sicher; die Ernährung wird nicht ausschließlich durch Milch bewirkt; wir haben den Kindern Infunde¹⁾, Bananen und sogar Branntwein geben sehen.

Eine Hypothese, die derjenigen von Pereira do Nascimento ähnlich ist, hat kürzlich H. Ziemann²⁾ aufgestellt.

Nach diesem Autor würde die Schlafkrankheit durch den Genuß einer giftigen Varietät von Maniok in rohem oder ungenügend vorbereitetem Zustande hervorgebracht werden; er vergleicht die Krankheit mit der Pellagra.

Wenn man in dieser Beziehung irgendwelche Analogie zwischen der Schlafkrankheit und der Pellagra³⁾ annehmen will, so wäre es viel logischer, in Anbetracht des endemo-epidemischen Charakters der afrikanischen Seuche, die schädlichen Wirkungen des Manioks einer Veränderung durch parasitäre Erkrankungen der Pflanze als ihrem natürlichen giftigen Prinzip zuzuschreiben. Wir können Ziemann mit denselben Argumenten antworten, die wir gegen Pereira do Nascimento angeführt haben. Wir wollen nur hinzufügen, daß Ziemann, der die letzten Arbeiten über die Schlafkrankheit nicht kennt, in denselben Fehler verfällt, dessen er die alten Autoren anklagt, indem er von ihren Hypothesen sagt, sie seien „Theorieen vom grünen

1) Brei von Maniokmehl, mit heißem Wasser bereitet.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Originale. Bd. XXXII. 1902. p. 413.

3) Einige Fälle von Pellagra sind auch in Portugal beobachtet worden.

Tische“. So scheint der Autor Zweifel über die Natur der anatomisch-pathologischen Läsionen zu haben, während doch die Arbeiten von Mott, die der portugiesischen Expedition und die von Moraes Sarmiento und C. Franca mit aller Sicherheit nachgewiesen haben, daß das Substrat der Schlafkrankheit eine Meningo-encephalo-myelitis ist.

Man hat gar keine histologische Untersuchung nötig. Die Sektionen zeigen deutliche Verletzungen der Hirnhäute.

Der Autor bestreitet die parasitäre Natur der Schlafkrankheit, indem er sagt, daß die Gegenwart der angeklagten Parasiten in dem kranken Organismus nicht konstant festgestellt sei.

Der Einwurf hat, was uns betrifft, keinen Wert, denn wir haben den von uns beschriebenen Streptococcus mit einer einzigen Ausnahme in allen untersuchten Fällen angetroffen. Allerdings scheint Ziemann unsere ersten Untersuchungen, die im August 1901 veröffentlicht wurden, nicht zu kennen, denn er zitiert sie nicht.

Sonderbar ist die Aeußerung von Ziemann, daß „im Blute der Schlafkranken sich keine nach den üblichen Methoden zur Weiterentwicklung zu bringenden spezifischen Krankheitserreger befinden“, da er seine Untersuchungen nur an einem einzigen Falle gemacht und als Kulturmittel nur Gelatine und Agar-Agar angewendet hat, die nach unserem Versuche gerade nicht sehr günstig sind; er hat auch eine Temperatur angewendet, die der Entwicklung der Keime nicht förderlich ist.

Die endemo-epidemische Form der Schlafkrankheit und die Kenntnis der parasitären Doktrin haben neuere Beobachter zu weiteren Untersuchungen veranlaßt, deren Ergebnis in der Einreihung der Schlafkrankheit unter die ansteckenden Krankheiten gipfelt.

Die erste Arbeit dieser Art ist von Carvalho de Figueiredo¹⁾ veröffentlicht worden, der bei Gelegenheit der Sektion eines an Schlafkrankheit gestorbenen Individuums 30 Stunden post mortem 2 Bacillen, Bacillus I und Bacillus II, gefunden hat. Der Bacillus I würde, nach dem Autor, einen Platz zwischen den Bacillen der Hühnercholera und anderen mit Polfärbung einnehmen; der Bacillus II wäre dem Bacillus fluorescens liquefaciens ähnlich.

Die Bedingungen, unter denen die Arbeit ausgeführt wurde, nehmen ihr, was die ätiologische Bedeutung der aufgefundenen Bacillen anbetrifft, viel von ihrem Werte; gleichwohl muß man anerkennen, daß der Autor den ersten Schritt zur Erkenntnis der parasitären Natur der Schlafkrankheit getan hat.

Im Jahre 1897 veröffentlichten Cajal und Lepierre²⁾ in Coimbra einen Fall von Schlafkrankheit, der einen 16-jährigen Neger aus Benguela betrifft. Nach einer kurzen klinischen Beschreibung suchen die Autoren die Aetiologie der Krankheit durch die bakteriologische Untersuchung des Blutes bei Lebzeiten des Patienten aufzuklären.

Die Proben wurden vermitteltst einer durch Kochen sterilisierten Spritze entnommen und passierten eine 5-proz. Karbolsäurelösung, was ein in den Laboratorien gänzlich ungebräuchliches Verfahren vorstellt. Die auf diese Art angelegten Kulturen haben ihnen einen Ba-

1) Dieser Fall bildet den Gegenstand der sehr interessanten These von C. de F. 2) Coimbra Medica. T. XVII. 1897. p. 465.

illus geliefert, von dem die Autoren glauben versichern zu können, daß er der spezifische Erreger der Schlafkrankheit sei.

Neben diesem Bacillus haben sie vereinzelt Körnchen gefunden, die sie nach weiteren Studien über den morphologischen Charakter des Bacillus als Sporen desselben ansehen. Es ist sehr sonderbar, daß in dem *intra vitam* entnommenen Blute sowohl ein Bakterium als auch dessen Dauerform vorhanden sein soll.

Bei der 48 Stunden nach dem Tode unter den schwierigsten Verhältnissen im Juli bei sehr hoher Temperatur gemachten Sektion haben die Autoren die Untersuchung des Blutes, die ja in diesem Falle gerade höchst wichtig gewesen wäre, nicht vornehmen können; sie haben den Bacillus in den Flüssigkeiten des Herzbeutels, der Pleuren und des Peritoneums, sowie in der Cerebrospinalflüssigkeit gesucht; sie haben ihn nur im Peritoneum zusammen mit dem *Bacillus coli communis* gefunden.

Was die Einimpfung des verdächtigen Bacillus auf Tiere betrifft, zu der einige Tage alte Kulturen verwendet wurden, so konnte nur konstatiert werden, daß seine pathogene Wirksamkeit beinahe gleich Null ist.

Wenn wir hinzufügen, daß Cajigal und Lepierre ihre Beobachtungen auf einen einzigen Fall stützen, daß die bakteriologischen Untersuchungen nicht auf die Organe ausgedehnt worden sind, in denen aller Wahrscheinlichkeit nach das pathogene Agens sich vorfinden mußte, und daß ihre Arbeiten von keiner Seite Bestätigung gefunden haben, so ist es klar, daß man ihrem Bacillus für die Aetiologie der Krankheit keinerlei Bedeutung beimessen kann.

Ganz vor kurzem hat Broden¹⁾ in einer der kgl. belgischen Akademie für Medizin am 26. Oktober 1901, d. h. nach der Veröffentlichung unser vorläufigen Berichte, vorgelegten Arbeit eine Studie über die Schlafkrankheit am belgischen Kongo veröffentlicht. Was die Schlußfolgerungen dieser Arbeit bezüglich der pathologischen Anatomie und Bakteriologie anbetrifft, so beruhen sie unseres Erachtens auf keinerlei beweisenden Tatsachen.

Nach dem Autor sollte die Cerebrospinalflüssigkeit fast immer blutig sein; uns scheint es im Gegenteil, daß dies verhältnismäßig selten vorkäme, denn wir haben unter 52 Sektionen nur 7mal jenen Befund festgestellt. Die Erweichung der Nervensubstanz ist so wenig häufig, daß wir sie nur 6mal haben beobachten können; nur in einem Falle war die Gehirnmasse außerordentlich erweicht.

Der Autor gibt nicht an, wieviel Stunden nach dem Tode er seine Sektionen ausgeführt hat; es ist beinahe sicher, daß sie erst spät gemacht werden konnten, was erklärt, weshalb wir bei unseren, kurz nach dem Tode gemachten Sektionen keine so groben Verletzungen gefunden haben, wie die von Broden erwähnten.

Was die Bakteriologie betrifft, so hat der Autor in der Cerebrospinalflüssigkeit, in den Hirnhäuten und in den Nervenzentren einen Bacillus gefunden, den er charakterisiert als „mehr oder weniger lange Stäbchen (1—4 μ u. 0,5—1 μ) mit abgerundeten Enden, ohne Kapseln, rapide Sporenbildung“. Er soll sich in jedem Nährmittel und bei allen Temperaturen vollständig entwickeln, fakultativ anaerob, und für Fledermaus, Manguste, Ziege und Hund pathogen sein. Der Bacillus soll sich

1) Bull. de l'acad. royale de méd. T. XV. 1901. p. 700.

auch in der äußeren Umgebung, in der Luft, im Wasser und im Boden vorfinden.

Es wäre interessant, zu wissen, auf welche Weise Broden die epidemische Ausbreitung der Schlafkrankheit mit dem Vorhandensein seines Bacillus im Wasser in Verbindung bringt. Die Epidemien, die ihren Ursprung vom Wasser nehmen (Cholera, Typhus), besitzen eine Art der Entwicklung und Ausbreitung, die ja sehr gut bekannt ist, die aber von derjenigen der Schlafkrankheit total verschieden ist.

Andererseits, welche außerordentliche Ausbreitungskraft müßte nicht eine Krankheit haben, deren Keime sich im Boden und in der Luft von Leopoldville so häufig vorfinden?

Bezüglich der Tierversuche scheint es ohne weiteres höchst auffallend, daß eine Krankheit, die in ihren Entwicklungsbedingungen so wählerisch ist, daß sie nur Neger und Mestizen, aber keine Weißen befällt, sich bei so verschiedenartigen Tieren, wie Fledermäusen, Ziegen und Affen mit allen Symptomen entwickeln sollte. Wir haben oft Impfversuche an Kaninchen, Meerschweinchen und Affen gemacht, nicht nur mit Kulturen, sondern auch direkt mit Produkten aus dem Organismus von Schlafkranken; niemals ist es gelungen, bei unseren Tieren weder den Symptomenkomplex noch die anatomisch-pathologischen Läsionen der Schlafkrankheit zu beobachten. Wenn die Schlußfolgerungen Brodens richtig wären, hätten wir doch sicher identische Resultate erhalten müssen, denn sein Bacillus mußte notwendigerweise in den von uns zur Impfung benutzten Produkten enthalten sein.

Es ist überdies leicht zu begreifen, daß ein Bacillus, den man so bequem auffinden und kultivieren kann und der so allenthalben anzutreffen wäre, wie der Autor angibt, doch allen denen, die sich mit der Aetiologie der Schlafkrankheit befaßt haben, nicht entgehen konnte. Wir haben Brodens Bacillus bei unseren Untersuchungen des Blutes, der Cerebrospinalflüssigkeit etc. nie gefunden, weder *intra vitam* noch bei Leichen, die 2–6 Stunden *post mortem* obduziert wurden, weder in direkt beobachteten Präparaten noch in Kulturen auf verschiedenen Nährmedien, von denen einige vielleicht der Entwicklung des Bacillus hätten günstiger sein sollen als die von Broden benutzten. Wir stehen deshalb nicht an, zu behaupten, daß Brodens Mikroorganismus mit der Aetiologie der Schlafkrankheit nichts zu tun hat.

Marchoux¹⁾, dem am Senegal die Häufigkeit von Pneumokokkenaffektionen auffiel, die sich oft in Form von Epidemien von Cerebrospinalmeningitis zeigen, äußert bezüglich der Aetiologie der Schlafkrankheit folgende Hypothese:

„Nicht alle Fälle von Cerebrospinalmeningitis enden mit dem Tode. Eine Anzahl derselben heilt, ohne Spuren zu hinterlassen. Aber in einigen Fällen kehrt die Gesundheit nicht völlig zurück, die Entzündung hat dauernde Verletzungen in den Hirnhäuten — eine diffuse Meningoencephalitis — hinterlassen, deren klinische Symptome das Bild der sogenannten Schlafkrankheit bilden.“

Der Autor hat einen Kranken mit ausgeprägter Schlafsucht beobachtet, die sich als Folge von durch Pneumokokken verursachter Pneumonie und Rhinitis eingestellt hatte; in einem Falle von Pneumonie, der tödlich verlief, hat er beträchtliche Verletzungen des Gehirns und

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. p. 193.

der Hirnhäute festgestellt, zugleich mit dem Auftreten von Pneumokokken in der Herzbeutel- und Cerebrospinalflüssigkeit.

Marchoux' Hypothese scheint uns nicht der Ausdruck der Wahrheit zu sein. Erstens stützt sie sich nur auf 2 Fälle, deren Diagnose nicht außer allem Zweifel ist. Zweitens ist von der Existenz von Cerebrospinalmeningitisepidemien in Angola nichts bekannt: in Alto Dande, dem einzigen Platze in der Provinz, wo 1900 eine wissenschaftlich nicht genau diagnostizierte, aber anscheinend mit jener Krankheit verwandte Epidemie geherrscht hat, ist gerade die Schlafkrankheit außerordentlich selten. Wir wollen noch hinzufügen, daß wir weder bei Kranken noch bei Leichen den Fränkelschen Pneumococcus aufgefunden haben, sondern einen Diplococcus, der leicht von jenem zu unterscheiden war.

Professor Manson, von der Schule für tropische Medizin in London, glaubt, daß bis zu einem gewissen Grade die *Filaria perstans* ein Faktor für die Aetiologie der Schlafkrankheit sein könne. Was ihn zu dieser Hypothese geführt hat, ist das Auftreten jenes Parasiten in dem Blute fast aller von ihm beobachteten Schlafkranken und zu gleicher Zeit das bemerkenswerte Zusammenfallen des Verbreitungsgebietes der Hypnose mit demjenigen des Vorkommens der *Filaria*; nur in einem einzigen Falle (Journal of tropical medicine. 1900. No. 4) hat der Autor trotz sorgfältiger Blutuntersuchungen die *Filaria* nicht finden können.

Aber in Anbetracht, daß die *Filaria* dort, wo sie existiert, in etwa 50 Proz. der gesunden Individuen vorkommt, gleichviel, ob die Schlafkrankheit an demselben Orte herrscht oder nicht, ist Manson geneigt, anzunehmen, daß es außer der *Filaria* noch eines anderen Faktors bedarf, um die Lethargie hervorzubringen. Wir wollen hinzufügen, daß Professor Manson einem von uns, der Gelegenheit hatte, ihn in London zu sprechen, versichert hat, daß gesunde Individuen häufig die *Filaria perstans* in ihrem Blute haben, ohne irgendwelche Symptome der Schlafkrankheit zu zeigen.

Was uns betrifft, so haben wir den Parasiten nur bei 2 Kranken aus Cazengo finden können. Wie wir später auseinandersetzen werden, haben wir zahlreiche Blutuntersuchungen gemacht, um nicht nur die *Filaria*, sondern auch die Diplokokken und Hämatozoarien zu suchen, rote und weiße Blutkörperchen zu zählen, die Leukocyten zu klassifizieren u. s. w. Die *Filaria perstans* ist wegen ihrer Größe und Beweglichkeit in frischen Präparaten leicht zu erkennen; in trockenen und fixierten Präparaten färbt sie sich sehr leicht nach dem Verfahren von Reuter, Leishman, mit der Ehrlichschen Triazidlösung, mit Methylenblau u. s. w., so daß, wenn sie in dem Blute unserer Kranken vorhanden gewesen wäre, sie sicher unserer Aufmerksamkeit nicht hätte entgehen können. Wir glauben demnach, schließen zu dürfen, daß in denjenigen Gegenden Afrikas, aus denen unsere Fälle stammten — dem Gebiete des Cuanza in weiter Entfernung vom Zaire — die *Filaria* gar nicht oder nur selten vorkommt.

Wir wollen jedoch gerne zugeben, daß in einer Gegend, wo die *Filaria* häufig ist, die damit behafteten Individuen vielleicht gesund zu sein scheinen, es aber in Wirklichkeit nicht sind, und daß diese dann unter günstigen Bedingungen dem Angriffe von Krankheitskeimen, der Schlafkrankheit z. B., leichter zum Opfer fallen als wirklich gesunde Menschen. Die *Filaria* würde also ein prädisponierender Umstand sein; was erklärlich macht, daß sie an den betreffenden Plätzen bei Schlaf-

kranken häufiger anzutreffen ist als bei gesunden Leuten. — Wir können nicht unerwähnt lassen, daß die *Filaria perstans* im Innern von British Guyana häufig vorkommt, obwohl man nicht sicher weiß, ob auch die Schlafkrankheit dort auftritt. Wenn die *Filaria* die Hauptursache der Lethargie wäre, so würde dies wunderbarlich sein, da dann die Krankheitsfälle sicher durch ihre Häufigkeit die allgemeine Aufmerksamkeit erregt hätten. Es ist überdies zu bemerken, daß in der genannten englischen Besetzung die *Filaria* nicht fehlt: Sie hat ihr bestimmtes Habitat, den Neger, mit der wohlcharakterisierten Infektion des Blutes, und ihr Zwischenwirt muß dort ebenfalls existieren, denn sie hält sich schon lange dort auf und verbreitet sich. Es sei hinzugefügt, daß Ziemann in der weiter oben genannten Arbeit die Ansichten Mansons bekämpft, indem er angibt, in dem Blute gesunder Kamerunneger, wo die Hypnose unbekannt ist, häufig Embryonen der *Filaria perstans* gefunden zu haben.

Ganz vor kurzem hat Rouget¹⁾, Bordeaux, einen Fall von Schlafkrankheit mit Obduktionsbefund bei einem Senegalesen veröffentlicht. Er hat bei diesem Kranken zahlreiche Filarien konstatiert, die Verstopfungen der Kapillaren und selbst der größeren Gefäße hervorgebracht hatten. Der Autor betrachtet diesen Fall als eine Stütze der Ansicht von Manson und stellt die Hypothese auf, daß die von verschiedenen Beobachtern aufgefundenen Mikroben nichts als die Folgen sekundärer Infektionen seien, zu denen die Kranken wegen der durch die Filarien hervorgebrachten Zirkulationsstörungen stärker geneigt seien.

Wir können uns dieser Meinung nicht anschließen. Prof. Manson schreibt nicht jeder beliebigen *Filaria* eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Schlafkrankheit zu, sondern nur der *Filaria perstans*. In dem Falle von Rouget handelte es sich aber nicht um diese, sondern um die *Filaria* von Demarquay. Falls den Filarien im allgemeinen eine ätiologische Bedeutung für die Schlafkrankheit zugeschrieben werden sollte, würde eines der hauptsächlichsten Argumente von Manson seinen Boden verlieren und das Verteilungsgebiet der Schlafkrankheit würde mit dem der Filariose zusammenfallen, was augenscheinlich nicht zutrifft.

Es ist demnach klar, daß der Fall von Rouget, statt die Hypothese des berühmten englischen Arztes zu stützen, vielmehr in Widerspruch mit ihr steht. Wenn wir Rougets Beobachtung mit den unserigen zusammenhalten, so können wir nur zu dem Schlusse kommen, daß die Anwesenheit der Filarien nur eine Tatsache sekundärer Natur ist, daß die Arten dieses Parasiten je nach der Gegend, woher die Kranken stammen, verschieden sind und daß sie bei denen, die aus *Filaria*-freien Plätzen stammen, gänzlich fehlen können.

Bakteriologische Untersuchungen.

Die bakteriologischen Studien, die wir zum Zwecke der Aufklärung der Aetiologie der Schlafkrankheit unternommen haben, wurden hauptsächlich und in systematischer Weise in denjenigen Flüssigkeiten und Geweben ausgeführt, in denen nach früheren Arbeiten und nach dem Resultate unserer Obduktionen die bedeutendsten Läsionen dieser Meningoencephalomyelitis zum Vorscheine kamen.

Schon in unserem ersten Berichte²⁾ vom 9. Juni 1901 über 6 auf

1) Compt. rend. de la soc. de biol. T. LIV. 1902. p. 19.

2) A. Bettencourt, Ayres Kopke, Gomes de Rezende, Correia Men-

der Insel Principe beobachtete Fälle hatten wir ausgesprochen, daß unsere vorläufigen Arbeiten uns „auf die infektiöse Natur der Schlafkrankheit hinzuweisen schienen“.

Zwei Monate später, am 10. August, haben wir zum ersten Male von Loanda aus über die Existenz eines Diplo-Streptococcus in der noch bei Lebzeiten entnommenen Cerebrospinalflüssigkeit (in 6 Fällen von 9 positiven Resultat) und in dem Exsudat der weichen Hirnhäute aller seziierten Leichen (13) berichten können; wir haben zu gleicher Zeit die hauptsächlichsten Kennzeichen des Mikroben beschrieben, aber nur summarisch und unvollkommen, denn wir hatten noch keine Zeit gehabt, ihn in allen Einzelheiten zu studieren. Diese Arbeiten sind im September 1901 veröffentlicht worden.

Am 7. August 1902¹⁾ hat der eine von uns in einer öffentlichen Vorlesung unter Zuhilfenahme von Projektionsbildern und unter Vorzeigung von anatomischen Präparaten und Kulturen das Resultat der bis dahin ausgeführten Untersuchungen bekannt gegeben; unsere Beobachtungen waren an der durch lumbare Punktion entnommenen Cerebrospinalflüssigkeit bei zahlreichen Kranken (21), an dem Exsudat der weichen Hirnhäute und der Ventrikelflüssigkeit, die bei 48 Obduktionen erhalten waren, endlich auch an dem Blute, den Ganglien und der Milz gemacht worden, und wir haben eine große Anzahl Schnitte, besonders des Nervensystems, gezeigt, die unseren Diplococcus innerhalb und außerhalb der Gefäße enthielten.

Wir haben zu gleicher Zeit auf das bestimmteste darauf hingewiesen, daß der Mikroorganismus als zur Gruppe der Streptokokken gehörig zu betrachten sei und den Namen *Hypnococcus* für denselben vorgeschlagen.

In jenem Vortrage sagten wir folgendes:

„Nach dieser allgemeinen Beschreibung der hauptsächlichsten Kennzeichen des *Hypnococcus* wollen wir versuchen, ihm einen Platz in der bakteriologischen Systematik anzuweisen. In unserem ersten Berichte waren wir geneigt, ihn als einen Uebergangstypus zwischen dem *Streptococcus* und dem *Diplococcus* von Fraenkell anzusehen.

Wir können heute versichern, daß es leicht ist, ihn von diesem letzteren zu unterscheiden. Es genügt, zu sagen, daß er bei Temperaturen unterhalb 24° auf Gelatine und anderen Nährmitteln kultiviert werden kann, um ihn von dem Fraenkelschen *Diplococcus* zu differenzieren. Wir haben indessen auch das von Hiss²⁾ vorgeschlagene Mittel angewandt, um die Differentialdiagnose zwischen dem *Pneumococcus* und den Bakterien der Streptokokkengruppe zu treffen. Zu sterilisiertem Ochsenblutserum, das mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und passend alkaliniert ist, fügt man 1 Proz. Inulin. Dieser Zucker wird von dem *Pneumococcus* vergoren, wobei gleichzeitig eine Aenderung der Reaktion eintritt, in deren Folge die Flüssigkeit koaguliert. Unser *Diplococcus* entwickelt sich gut in diesem Nährmittel, ändert dessen Reaktion nicht und koaguliert es nicht, selbst nach einmonatlichem Stehen im Thermostaten.

des, Doença do somno. Relatorios enviados ao Ministerio da Marinha pela Missão scientifica nomeada em 21 de fevereiro de 1901. Lisboa 1902.

1) Doença do somno. Trabalhos executados até 6 de agosto de 1902 pela Missão enviada a Angola pelo Ex^{mo} Ministro da Marinha, composta de Annibal Bettencourt, chefe da Missão, Ayres Kopke, Gomes de Rezende e Correia Mendes. (Revista Portuguesa de Medicina e Cirurgia Practicas. 1902. No. 139-144.)

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXI. p. 302.)

Ganz kürzlich haben wir im Brit. med. Journ. vom 14. März einen vorläufigen Bericht des Bakteriologen Castellani von der englischen Expedition gelesen, die zum Studium der Schlafkrankheit nach Uganda entsandt war¹⁾; der Autor gibt an, in der Cerebrospinalflüssigkeit von Kranken und Leichen einen Streptococcus gefunden zu haben, der von dem unserigen verschieden sei.

Es sei bemerkt, daß Castellani seine Untersuchung auf dieselbe Weise wie wir ausgeführt hat. Die Ansicht des Autors ist wahrscheinlich dadurch veranlaßt, daß er unsere ersten Berichte nur aus einer schlechten Uebersetzung kennt, die in dem Journ. of tropical med. erschienen ist^{2, 3)}. In der Tat kann in jenen Arbeiten die Beschreibung unseres Bakteriums, was seine Klassifizierung anbetrifft, zu Zweifeln Veranlassung geben; wir haben ihn aber später ausführlicher beschrieben und ihn als einen Vertreter der großen Gruppe der Streptokokken aufgefaßt.

Uebrigens sind die Divergenzen zwischen den Angaben unserer ersten Berichte und den Befunden Castellanis ganz unwesentlich und keineswegs genügend, um eine so tiefgehende Unterscheidung zu treffen, wie jener Autor es tut. Man muß doch bedenken, daß die von Castellani angegebenen Unterschiede auf zweierlei Ursachen beruhen können: Auf wirklicher Verschiedenheit der beiden Bakterien oder aber bloß den Bedingungen, unter denen die Beobachter gearbeitet haben. Castellani faßt nur die erstere Eventualität ins Auge, während nach unserer Meinung die zweite zutrifft. Daß dem wirklich so ist und also die von Castellani angezogenen Gründe keinen Wert haben, geht daraus hervor, daß er am Schlusse seines Berichts dieselbe Meinung ausspricht, wie wir in dem unserigen vom August 1901. Wir sagten damals: „Was die Stellung des Diplo-Streptococcus im bakteriologischen System anbetrifft, so werden noch weitere Forschungen und zahlreichere Versuche nötig sein, um die Frage zu entscheiden. Unbestritten sind seine Analogieen mit dem Fraenkelschen Diplococcus einerseits und den Streptokokken andererseits, von denen man noch nicht weiß, ob sie verschiedene Arten oder nur Varietäten oder Rassen derselben Species sind; aber wir sind noch nicht genügend unterrichtet, um ihn ohne weiteres einer von den beiden Gruppen zuzuteilen, die ja übrigens, wie allen Bakteriologen bekannt ist, enge Verwandtschaft zueinander haben. Wir können von unserem Diplococcus sagen, daß er ein Uebergangstypus zwischen dem Fraenkelschen Mikroben und dem Streptococcus zu sein scheint.“

Castellani seinerseits sagt: "From the description just given, I think this germ must be considered a new variety of streptococcus. Every bacteriologist knows how difficult it is to differentiate sharply the varieties of streptococci on account of the numerous transition forms that occur, even a sharp separation between the streptococcus pyogenes and the streptococcus lanceolatus (Fraenkels diplo-

1) Etiology of sleeping sickness. (Brit. med. Journ. 1903. 14 march. No. 2202.)

2) The sleeping disease (Doença do sono). Report sent to the Portuguese Minister of Marine by the scientific committee sent to study the sleeping sickness of West Africa, on February 21, 1901. (Journ. of tropical med. Vol. V. 1902. No. 10, 11, 12.)

3) Unmittelbar nach dem Erscheinen dieser Uebersetzung haben wir an die Redaktion der Zeitschrift eine Notiz geschickt, in welcher wir auf die Irrtümer aufmerksam machten und die zu machenden Korrekturen angaben. So sonderbar es auch klingt, jene Notiz ist nie veröffentlicht worden.

coccus) seeming to many authors to be impossible". Und weiter unten: "I think this organism is a distinct variety of streptococcus to be classed between the streptococcus pyogenes and the streptococcus lanceolatus (Fraenkel's diplococcus) and it might be called the streptococcus of sleeping sickness."

Alles dies bedeutet, daß wir in unserem ersten Berichte und Castellani in dem seinigen zu demselben Schlusse gekommen sind und ihn beinahe mit denselben Worten ausdrücken. Man würde sich diese Uebereinstimmung nicht erklären können, falls es sich um verschiedene Mikrobenspecies handelte; wie soll man es sonst begreifen, daß wir, unabhängig voneinander, an verschiedenen Plätzen und zu verschiedenen Zeiten arbeitend, dieselben Vorstellungen gewonnen hätten, es sei denn, man nähme an, daß der von uns in Westafrika und der von Castellani in Ostafrika isolierte Mikroorganismus ein und derselbe ist.

Auf welche Tatsachen stützt sich Castellani nun, seine Bakterien für verschieden von den unserigen zu erklären? Wir bedauern, daß die portugiesische Zeitschrift, in welcher unsere zweite Arbeit lange vor dem Erscheinen von Castellanis erstem Berichte veröffentlicht worden ist, nicht zu seiner Kenntnis gelangte; alle Zweifel wären dann beseitigt und diese Diskussion unnötig gewesen.

Castellani sagt: "As regards the diplo-streptococcus of the Portuguese, I do not think any confusion can arise. The Portuguese state that the culture of their germ generally failed every time on the usual media like agar, gelatine-agar¹), etc., and with gelatine they never succeeded in obtaining cultures."

Die einzigen Unterschiede wären also die folgenden: Die Kulturen auf den gewöhnlichen Nährmitteln gelingen nicht immer und wir haben sie auf Gelatine niemals erhalten. Aber was wir sagten, war, „der von uns aufgefundene Diplo-Streptococcus ist in fast allen gebräuchlichen Nährmitteln schwer zu kultivieren. Er entwickelt sich nur selten in Fleischbrühe und in einfachem oder mit Glycerin versetztem Agar. Die von Martin für die Kultur des Loefflerschen Bacillus vorgeschlagene Flüssigkeit, die man durch Maceration von Schweinemagen erhält, gibt viel bessere Resultate, besonders wenn man sie durch Hinzufügung von Agar fest machte.“

Was man aus unserem Text herauslesen kann, ist einzig und allein, daß der Coccus schwer kultivierbar ist, aber nicht, daß er gar nicht zu kultivieren sei. Wir fügen dann hinzu, daß er in den Nährmitteln von Martin sich bedeutend besser entwickelt; eine unserer Mikrophotographien zeigt sogar Kolonien, die auf der Oberfläche des nach Martin präparierten Agars gewachsen sind. Diese Tatsachen bereits hätten Castellani darauf hinweisen sollen, daß die mangelnde Entwicklung des Mikroben in den genannten Nährmitteln mehr von deren Unzulänglichkeit als von biologischen Eigenheiten des Mikroben herrührt. In der Tat haben wir in unserer ersten Arbeit nur von direkten Aussaaten und frisch aus dem Organismus isolierten Mikroben gesprochen, was ja bei der kurzen Dauer unseres Studiums nicht verwunderlich war. Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß wir zur Herstellung unserer Nährmittel immer Wittesches Pepton benutzten, das

1) Wir haben von diesem Nährmittel gar nicht gesprochen, denn wir haben uns desselben nie bedient.

sehr reich an Albumosen und infolgedessen für die Entwicklung von Bakterien nicht ebenso günstig ist als Peptone anderer Herkunft. Wir haben noch ganz kürzlich Gelegenheit gehabt, diese Tatsache, auf welche Nicolle und Remlinger in dem ausgezeichneten „*Traité de technique microbiologique*“ aufmerksam machen, an verschiedenen Bakterienarten, darunter auch bei dem *Hypnococcus*, zu bestätigen.

Die Wichtigkeit dieser Tatsache, zumal in unserem Falle, wo es sich um die Isolierung des Keimes aus unmittelbar dem Körper entnommenen Produkten handelt, geht auch daraus hervor, daß er sich in den Nahrungsmitteln von Martin, die ja schließlich nichts weiter als im Laboratorium ad hoc bereitete Lösungen von gutem Pepton sind, so sehr viel besser entwickelt. Ähnliche Tatsachen sind auch anderwärts beobachtet worden; so hat ein von Wassermann bei Polyarthritiden isoliertes Bacterium, das zur Gruppe der Streptokokken gehört, sich in den mit Witteschem Pepton hergestellten Nahrungsmitteln nicht entwickelt, wohl aber in denjenigen, die mit Pepton von Chapoteau bereitet waren.

Aber diese Meinungsverschiedenheiten zwischen Castellani und uns existieren gegenwärtig gar nicht mehr, denn es ist uns gelungen, den Mikroben in allen Nahrungsmitteln zu züchten; lange vor der Publikation jenes Gelehrten haben wir unsere Kulturen in Bouillon, auf Agar und Kartoffeln beschrieben; seine Resultate sind mit den unserigen identisch. Wir haben auch beobachtet, daß der *Coccus* weder Milch koaguliert noch Glukose zersetzt, was Castellani vollständig bestätigt.

Ebenso besteht auch die Frage der Entwicklung auf Gelatine gegenwärtig nicht mehr, aus dem einfachen Grunde, weil es uns in Lissabon gelungen ist, Kulturen auf diesem Nahrungsmittel zu erhalten; ihre Beschreibung findet sich ebenfalls in der „*Revista Portuguesa de Medicina e Cirurgia*“¹⁾, wo wir zu gleicher Zeit die wahrscheinlichen Ursachen unseres Mißerfolges in Loanda angeben.

Wir haben niemals direkte Aussaaten von Krankheitsprodukten auf Gelatine gemacht und können also auch nicht sagen, ob sie ein positives Resultat gegeben hätten oder nicht. Uebrigens gibt Castellani nicht an, ob er alle die von ihm genannten Nahrungsmittel schon bei den ersten Kulturen angewendet hat oder erst bei den folgenden Generationen. Wie man von verschiedenen Mikroben species, z. B. dem intracellulären *Diplococcus* von Weichselbaum-Jaeger, weiß, ist dieser Umstand durchaus nicht gleichgültig.

Kurz, die Charaktere, welche Castellani zur Grundlage für die Unterscheidung benutzt, existieren in Wirklichkeit nicht; die beiden Keime sind ohne Frage identisch, die Uebereinstimmung der Beschreibungen in Bezug auf die Punkte, die wir hervorgehoben haben, ist sogar höchst bemerkenswert. Was die morphologischen Charaktere anbetrifft, so haben wir die Verschiedenheit der Formen und Dimensionen sowie das gruppenweise Auftreten vom einfachen *Diplococcus* bis zu mehr oder weniger langen Ketten, sei es im Organismus, sei es in Kulturen, genügend beschrieben, ähnliche Tatsachen sind von Castellani beobachtet worden. Die Beschreibung, welche der Autor von den Merkmalen der Bouillonkulturen und von

1) loc. cit.

dem Aussehen des *Hypnococcus* in demselben liefert, stimmt mit der unserigen vollständig überein.

Wir wollen zum Schlusse noch darauf hinweisen, daß unsere Untersuchungen sich nicht nur auf Kulturen und auf die bakteriologische Prüfung von Körperflüssigkeiten beschränkt haben; wir haben auch zahlreiche Schnitte von verschiedenen Organen und hauptsächlich vom Nervensystem untersucht. Wir haben darin zuerst den *Streptococcus* gefunden; unsere Schnitte sind von Prof. Manson in London, von Marmorek am „Institut Pasteur“ in Paris gesehen und durch Mense dem letzten Kolonialkongresse in Berlin vorgelegt worden¹⁾.

Wie soll man es in Anbetracht ihrer morphologischen Gleichheit begreifen, daß die Mikroben, die wir durch Kulturen isoliert haben, nicht dieselben sein sollten, wie die im Exsudat der weichen Hirnhäute und in den Schnitten, und wie soll der von Castellani aus denselben Regionen des Körpers isolierte Organismus, den wir bei unseren Untersuchungen bei Kranken und Leichen herangezogen haben, nicht derselbe sein, wie der in unseren Schnitten?²⁾

Es ist kein Zweifel erlaubt; der Mikrobe von Castellani ist mit dem unserigen identisch und wir können in den Untersuchungen jenes Bakteriologen nur die Bestätigung unserer eigenen erblicken; das ist die Hauptsache.

Was die Priorität der Entdeckung anbetrifft, so ist das eine Frage zweiten Ranges; es kann indessen niemand leugnen, daß sie uns zukommt. Das raubt natürlich den Arbeiten der englischen Mission nichts von ihrem Werte; diese, unabhängig von uns und in einer von unserem Beobachtungsplatze so weit entfernten Gegend ausgeführten Arbeiten haben vielmehr eine für die Aetiologie der Schlafkrankheit sehr wichtige Tragweite. Es ist das erste Mal, daß ätiologische Forschungen über diese Krankheit eine ernsthafte und glaubwürdige Bestätigung finden.

In 52 Fällen unter 56 überhaupt gemachten Obduktionen haben wir das Exsudat der weichen Hirnhäute untersucht. In 4 Fällen (XXVI, XL, LI, LIV) war es uns aus speziellen Gründen unmöglich, die Untersuchung vorzunehmen. Das Exsudat wurde immer mit Hilfe sterilisierter Pipetten entnommen, bevor die Dura geöffnet wurde und nachdem die Oberfläche dieser Membran mit einem zur Rotglut erhitzten Glasstabe gut kauterisiert war. Auch wurde die Cerebrospinalflüssigkeit unter denselben Vorsichtsmaßregeln durch die obere Wand der seitlichen Ventrikel hindurch entnommen. In 5 Fällen haben wir uns, da kein Exsudat unter den Hirnhäuten vorhanden war, mit der Untersuchung der Cerebrospinalflüssigkeit begnügt.

Am Anfang unserer Untersuchung haben wir alle diese post mortem entnommenen Produkte in verschiedenen Nährmitteln ausgesät, später

1) Deutscher Kolonialkongreß 1902. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. 1903. Heft 1.)

2) Wir müssen hier einen Irrtum in der englischen Uebersetzung unserer ersten Arbeit korrigieren. Es steht dort, daß wir den *Diplococcus* aus dem Blute aller unserer Kranken isoliert haben, die überhaupt in dieser Richtung untersucht worden sind. Das ist nicht richtig. Was wir gesagt haben, ist, daß der *Hypnococcus* nur einmal bei 40 Blutuntersuchungen gefunden wurde. Wir können hinzufügen, daß wir jetzt unter weiteren 7 Fällen noch 2 positive besitzen. Castellani hat ihn nur einmal isoliert, wir finden uns also auch in dieser Hinsicht in Uebereinstimmung.

haben wir nur das Nährmittel von Kiefer (Ascitesagar) und eine Mischung gleicher Teile von Martinscher Bouillon und Ascitesflüssigkeit angewendet, da wir erkannt hatten, daß diese Medien für die Entwicklung der ersten Kulturen unseres Mikroorganismus am geeignetsten waren. Unter den 52 bakteriologisch untersuchten Fällen fanden wir den *Diplo-Streptococcus*:

In direkten Präparaten und Kulturen 40mal; nur in direkten Präparaten, ohne Entwicklung von Kulturen (Fälle I, XI, XIV, XIX, XXV, XXVIII, XXXIII, XLII, LXI, LXIII), 10mal; die Kulturen ergaben nur den gelben *Staphylococcus* 1mal; die direkten Präparate und Kulturen zeigten die Gegenwart des Fraenkelschen *Pneumococcus* bei einer Kranken, die an Pneumokokkeninfektion zu Grunde ging, 1mal.

Es sei bemerkt, daß wir in dem Falle XXV keine Aussaaten machten und daß in dem Falle XXVIII die Probenahme mit Pipetten gemacht worden war, deren Sterilisierung nicht außer allem Zweifel war. In diesem letzteren Falle ergaben die Aussaaten sehr zahlreiche Kulturen eines *Bacillus* der Heubacillusgruppe, die, da sie sich mit der charakteristischen Stärke entwickelten, das Wachstum des *Hypnococcus* hätten unterdrücken können. Die Kulturversuche haben demnach, im ganzen genommen, 8mal negatives Resultat gegeben. Diese Tatsache, die ja übrigens bei vielen anderen bakteriologischen Studien wiederkehrt, hat in Wirklichkeit nichts Auffallendes. Man bedenke, daß die Diplokokken in den direkten Präparaten manchmal sehr vereinzelt sind und daß sie bereits abgestorben sein oder sich in einem Zustande stark abgeschwächter Lebensfähigkeit befinden können.

Die Kulturen haben in 37 Fällen den reinen *Hypnococcus* ergeben; 1mal (Fall IX, Obduktion 20 Stunden nach dem Tode) war er mit *Coli* vergesellschaftet, ein anderes Mal (Fall XXXIX, Obduktion 4 Stunden nach dem Tode) befand er sich in Gesellschaft eines *Bacillus*, den wir nicht speziell diagnostiziert haben, und ein letztes Mal endlich wurde er mit coliformen Bacillen zusammen angetroffen (Fall XXXIV).

In 5 Fällen haben wir bei der Obduktion entnommene Ganglien untersucht.

Die Resultate waren folgende:

Gegenwart des *Hypnococcus* in direkten Präparaten und Kulturen (Fälle III, VII, X) 3mal,

Hypnokokken in den Präparaten; Aussaaten wurden nicht gemacht (Fall XXV) 1mal,

keine Diplokokken gefunden 1mal.

Die Milz wurde in 16 Fällen bakteriologisch untersucht. Die Aussaaten auf Ascitesagar, Ascitesbouillon und die Ausstrichpräparate mit Milzsaft ergaben in den Fällen III, VI, X und XI positives Resultat; in den Fällen XVI und VI Principe war das Resultat negativ. In 5 Fällen (XVIII, XXIII, XXIX, XXXV und XXXIX) beschränkte sich die Untersuchung auf die mikroskopische Beobachtung von Präparaten, die mit Karbolthionin nach Nicolle, mit Loefflerschem Blau und nach der Gramschen Methode und ihren Modifikationen gefärbt waren; diese Präparate zeigten *Diplococcus*-Formen, die manchmal isoliert, bisweilen aber zu kurzen Ketten vereinigt waren. In den Fällen XIII, XXX, XXXIII, XLIV und LXII wurde ebenso verfahren, aber ohne positives Resultat.

Die Aussaaten mit Parotidensaft in den Fällen IX und XLXIII

hatten das erste Mal ein positives, das zweite Mal ein negatives Ergebnis.

Außer diesen bei Leichen gemachten Untersuchungen haben wir natürlich auch bakteriologische Versuche *intra vitam* ausgeführt, zu denen hauptsächlich die durch lobare Punktion erhaltene Cerebrospinalflüssigkeit diente. Die Punktion wurde jedesmal nach sorgfältiger Desinfektion der Haut mittels Sublimatlösung 1:1000 und nachfolgender Waschung mit Alkohol und Aether oder aber nach der Kauterisation vermittelt des Thermokauters vorgenommen. Die Flüssigkeit wurde langsam durch eine Spritze von Debove oder Simal, die durch mehr als halbstündiges Erhitzen im Dampfe von 120° sterilisiert waren, aufgesaugt.

21 Kranke wurden der Quinckeschen Operation unterworfen; bei den Kranken IV, XXI, XXXVI und LVI wurde die Flüssigkeit 2mal entnommen.

Die Resultate waren folgende:

Auftreten des *Hypnococcus* in Kulturen (Fälle IV, XII, XV, XXI, XXXVI, LVIII, LIX, LXI, III und IV Principe) 10mal,

der *Hypnococcus* fand sich nur in den direkten Präparaten, die Aussaaten blieben steril (Fall VI und I Principe) 2mal,

der *Hypnococcus* wurde nicht aufgefunden (Fälle III, X, XI, XLVI, LVI, LXIII, LXIV, II und V Principe) 9mal.

Die Anzahl der Punktionen, welche ein positives Resultat ergeben haben, beträgt also 52 Proz.; die negativen Resultate finden, zum Teil wenigstens, ihre Erklärung nicht in der Abwesenheit des Mikroben in der Cerebrospinalflüssigkeit, sondern in seiner sehr geringen Anzahl oder in einer Abschwächung seiner Vitalität. In der Tat findet sich der *Hypnococcus* in den direkten Präparaten niemals sehr reichlich. Die Mikroorganismen befinden sich darin überhaupt nur sehr vereinzelt und es bedarf oft einer langen und peinlichen Durchmusterung der Präparate, um sie aufzufinden. Man muß deshalb für die Aussaaten eine große Menge Material verwenden, was nicht immer angängig ist. Wie wir bereits in unserem ersten Berichte gesagt haben, erkannten wir gleich am Anfange unserer Arbeiten, daß es zum Gelingen der Kulturen nötig ist, sehr reichliche Aussaaten zu machen. Aus diesem Grunde haben wir die Cerebrospinalflüssigkeit selbst als Nährmedium benutzt, indem wir ihr eine gleiche Menge Martinscher Bouillon von normaler oder doppelter Konzentration zufügten und das Ganze in den Brütschrank brachten. Zu gleicher Zeit machten wir Aussaaten in das Nährmedium von Kiefer und in Ascitesbouillon. Wir verwandten auch zur Aussaat das durch Zentrifugieren der Flüssigkeit erhaltene Sediment.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Die Aetiologie der Schlafkrankheit der Neger.

Von Dr. Aldo Castellani,

Professor der Pathologie, Colombo Medical College (Ceylon).

Mit 1 Tafel.

Ueber die Ursache der Schlafkrankheit sind die verschiedensten Hypothesen aufgestellt worden.

Die Einen sehen sie als eine Form von Malaria an, die anderen als eine Abart von Beri-beri, andere wieder als eine Intoxikation durch ein Nahrungsmittel (Ziemann). Le Dantec beschuldigt *Anguillula intestinalis* als Ursache der Krankheit, Ferguson hält sie einfach für Ankylostomiasis. Die meisten Anhänger hat die Theorie von Manson, der zufolge die Krankheit durch *Filaria perstans* verursacht wird, deren Embryonen er konstant im Blute einiger an Sleeping Sickness erkrankter Individuen vorfand. Die *Filaria perstans* ist eine von den anderen beim Menschen vorkommenden *Filaria*-Arten (*Filaria nocturna* etc.) leicht differenzierbare Varietät.

Die Theorie von Manson ist durch die Beobachtungen von Low and Christy nicht mehr haltbar geblieben. Dieselben haben gezeigt, daß in einigen Distrikten die *Filaria perstans* auch bei ganz gesunden Individuen vorkommt, während sie in anderen, von der Epidemie heimgesuchten Distrikten sowohl bei Gesunden als auch bei Kranken außerordentlich selten zu finden ist.

Es fehlt auch nicht an Autoren, die der Krankheit einen bakteriellen Ursprung zuschreiben; den verschiedensten Mikroorganismen ist bereits die Schuld an der Erregung der Krankheit zugeschrieben worden.

Zwei portugiesische Aerzte, Cagigal und Lepierre, kündigten im Jahre 1897 an, aus dem Blute eines an Schlafkrankheit Erkrankten einen Bacillus isoliert zu haben, der, den Versuchstieren injiziert, bei denselben diese Krankheit hervorrief. Diese Versuche konnte Brault und Lapin nicht bestätigen.

Marchoux hält den Diplococcus Fraenkel für den Erreger der Krankheit. Er stützt seine Ansicht auf einige Beobachtungen, in denen er die Schlafkrankheit bei Individuen sich entwickeln sah, die vorher an Pneumonie gelitten hatten. Ueberdies fand er bei der Autopsie eines Falles von Sleeping Sickness, der durch eine Pericarditis kompliziert war, im perikardialen Exsudat den Diplococcus Fraenkel. In einem anderen Falle, der durch eine chronische Rhinitis kompliziert war, fand er denselben Diplococcus im Nasensekrete.

Diesen beiden Beobachtungen kann — wie ich glaube — keine besondere Bedeutung beigelegt werden.

Neulich sind die Resultate der Untersuchungen einer portugiesischen Kommission und die von Dr. Broden publiziert worden.

Die portugiesische Kommission beschreibt einen Diplo-Streptococcus, der sich fast konstant in Blut- und Cerebrospinalflüssigkeit der an Sleeping Sickness Erkrankten vorfindet.

Dr. Broden, der Direktor des Laboratoriums von Leopoldville im Kongostaate, nimmt als Ursache der Krankheit einen schlanken, sporenbildenden und wenig beweglichen Bacillus an, der auf den gebräuchlichen Nährböden gut wächst. Dr. Broden gibt an, den Bacillus

im Blute aller seiner Fälle gefunden zu haben. Das Blut besaß dem Bacillus gegenüber keinerlei Agglutinationsvermögen.

Meine eigenen Untersuchungen habe ich vom August 1902 bis zum April 1903 in Uganda angestellt, wohin ich im Auftrage der Royal Society gegangen war¹⁾.

Seit November 1902, als ich begann, eine besondere Technik für die Untersuchung der Cerebrospinalflüssigkeit der Schlafkranken zu verwenden, habe ich häufig in derselben ein *Trypanosoma* beobachtet. Um gute Erfolge zu erzielen, muß man sich folgender Technik bedienen: Mittelst Lumbalpunktion entnimmt man mindestens 15 ccm Cerebrospinalflüssigkeit. Es ist ratsam, die ersten Kubikzentimeter fortzugießen, da sie Blut enthalten können. Sobald die Flüssigkeit klar ausfließt, werden 10 ccm gesammelt und 15 Minuten lang zentrifugiert. Nach Verlauf dieser Zeit findet man auf dem Boden der Tube einen leichten Niederschlag von weißlichem Sediment und in einigen Fällen eine geringe Spur Blut. Die aufstehende Flüssigkeit wird abgegossen und das Sediment mit mäßig starker Vergrößerung mikroskopiert. Da die Trypanosomen anfangs sehr lebhaft sind, sind sie leicht aufzufinden.

Ich habe meine Untersuchungen in der folgenden Tabelle (p. 64) zusammengestellt.

Die Tabelle zeigt, daß in 34 Fällen von Schlafkrankheit in der Cerebrospinalflüssigkeit, die durch Lumbalpunktion zu Lebzeiten entnommen wurde, Trypanosomen in 20 Fällen gefunden wurden.

In 2 Fällen habe ich auch in derselben Weise Flüssigkeit untersucht, die post mortem den Seitenventrikeln entnommen war, und in beiden Fällen habe ich den gleichen Parasiten gefunden. In dem Blut der wenigen, zu diesem Zweck untersuchten Fälle fand ich *Trypanosoma* mit Sicherheit ein Mal. In dem Blute habe ich verschiedentlich große rundliche Körper bemerkt, die ich weiter unten beschreiben werde und die meines Erachtens als Entwicklungsstufe von *Trypanosoma* betrachtet werden können. Dieselben Körper habe ich häufig in Liq. cerebrospinalis gefunden. Man könnte denken, daß die Trypanosomen in der Cerebrospinalflüssigkeit gefunden wurden infolge von Blutspuren, die zuweilen einen Teil des Sediments bilden, aber in verschiedenen Fällen waren keine Blutspuren vorhanden. Als Kontrolle habe ich 12 Fälle von gewöhnlichen Erkrankungen untersucht. Die bei Lebzeiten durch Lumbalpunktion entnommene Cerebrospinalflüssigkeit enthielt in keinem Falle *Trypanosoma*.

Beschreibung des Parasiten.

Frische Präparate. Der Parasit hat das gewöhnliche, allgemeine Aussehen der anderen Trypanosomen. Er hat eine wurmförmige Gestalt und man beobachtet daran, daß das eine Ende in eine Geißel ausgeht, während das andere mehr oder weniger stumpf, kugelförmig, eine undulierende Membran und eine Vakuole hat. Das Protoplasma scheint keine ganz gleichmäßige Struktur zu haben, sondern vielmehr eine alveoläre, wie sie von Bradford und Plimmer bei *Trypanosoma Brucei* beschrieben ist, gleichwohl augenscheinlich weit davon entfernt, so charakteristisch zu sein. Anfangs bewegt sich der Parasit sehr lebhaft schraubenförmig, wie es bei den anderen Arten von *Trypanosoma* be-

1) Mein Bericht ist in den Proceedings of the Royal Society, 8. Mai 1903, veröffentlicht worden.

Fälle von Schlafkrankheit.

No.	Name	Geschlecht	Alter	Datum	Krankheits- stadium	Mikroskopische Beschaffenheit des Sediments	Befund von Try- panosoma im Liq. cerebrosp.
1)	Mundo	M.	15	12. Nov. 02	3.	Wenige Leukocyten, Mehrzahl mononukleär; einige, ganz vereinzelt rote Blutkörper.	positiv
2)	Maoli	"	18	25. „ 02	3.	Einige wenige Leukocyten und r. Blutk.	negativ
3)	Aritzo	"	25	7. Dez. 02	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	"
4)	Manika 1)	W.	10	15. „ 02	3.	Wenig Leukocyten, sehr wenig r. Blutk.	positiv
5)	Ialika	"	22	15. „ 02	2.	desgl.	negativ
6)	Asmeni	"	8	15. „ 02	3.	Einige Leukocyten u. viele r. Blutk.	"
7)	Bolenti 2)	M.	10	22. „ 02	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	positiv
8)	Ally	"	20	5. Jan. 02	3.	Wenige Leukocyten, einige r. Blutk.	negativ
9)	Makassa	W.	25	25. „ 03	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	positiv
10)	Kaperi II	M.	14	25. „ 03	2.	Wenige Leukocyten, sehr wenig r. Blutk.	negativ
11)	Ally II	"	30	2. Febr. 03	3.	Einige Leukocyten und r. Blutk.	"
12)	Mocreza	"	30	10. „ 03	2.	Wenige Leukocyten und r. Blutk.	"
13)	Budara	"	22	27. „ 03	2.	Einige Leukocyten, sehr wenig r. Blutk.	positiv
14)	"	"	22	2. März 03		desgl.	"
14)	Nombi	W.	30	27. Febr. 03	1.	Wenige Leukocyten und r. Blutk.	negativ
15)	Fatoma	"	18	27. „ 03	2.	Ganz vereinzelt Leukocyten, keine r. Blutk.	"
16)	Zenabu	"	18	1. April 03		Einige Leukocyten u. wenig r. Blutk.	positiv
17)	Benjamin	M.	20	24. März 03	5.	Keine r. Blutk.	negativ
18)	Zakibu	"	25	25. „ 03	2.	Wenige Leukocyten und r. Blutk.	positiv
19)	"	"	25	27. „ 03		desgl.	"
19)	Seera	"	25	26. „ 03	2.		"
20)	Kimbra	"	55	26. „ 03	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	"
21)	Abdulla	"	"	26. „ 03		Keine r. Blutk.	"
22)	Kagoya	W.	20	26. „ 03	3.	desgl.	"
23)	Keogaffum	M.	55	27. „ 03	2.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	negativ
24)	"	"	55	1. April 03			"
24)	Jacobo 3)	"	20	28. März 03	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	positiv
25)	Jeogobaza	"	40	27. „ 03	2.	Wenige Leukocyten, keine r. Blutk.	"
26)	Ibsarara	W.	35	27. „ 03	3.	Einige Leukocyten, keine r. Blutk.	"
27)	Leobení	M.	25	28. „ 03	2.	Keine r. Blutk.	"
28)	Kidorme	"	20	28. „ 03	2.	Einige Leukocyten und r. Blutk.	"
29)	Keagabidoia	"	55	28. „ 03	3.	desgl.	negativ
30)	"	"	55	1. April 03	3.	desgl.	"
30)	Kitaroma 4)	"	25	28. März 03	2.	desgl.	"
31)	"	"	25	2. April 03	2.	desgl.	"
31)	Waiswa	"	10	29. März 03	2.	desgl.	positiv
32)	Kaperi I 5)	"	8	23. „ 03	3.	Keine r. Blutk.	"
33)	Matasa	"	28	29. „ 03	2.	Wenige Leukocyten und r. Blutk.	negativ
34)	"	"	28	2. April 03	2.	desgl.	"
34)	Decodemo	"	25	31. März 03	2.	desgl.	positiv

1) Patientin starb am 18. Dezember 1902. Keine Komplikation. In der Flüssigkeit der Seitenventrikel Trypanosoma nachgewiesen.

2) In frischen, an demselben Tage einem Finger entnommenen Blutpräparaten habe ich Trypanosomen gefunden, die denen bei der Lumbalpunktion im Liquor gefundenen gleich sind.

3) Die Trypanosomen waren viel zahlreicher als in anderen Fällen.

4) Nur 5 ccm Liquor gesammelt.

5) Trypanosomen auch in der dem Seitenventrikel post mortem entnommenen Flüssigkeit vorhanden.

geschrieben ist¹⁾. Betrachtet man das Präparat einige Zeit unter dem Mikroskop, so sieht man, daß die Bewegungen allmählich träger werden, bis sie ganz aufhören. Häufig hört die Bewegung des *Trypanosoma* in der Nähe eines Leukocyten auf, welcher ihn nach und nach einschließt. Bei verschiedenen Gelegenheiten habe ich Trypanosomen mit zwei deutlich wohlentwickelten Geißeln gesehen. Die Parasiten waren wahrscheinlich in einem Stadium von Längsteilung.

Gefärbte Präparate. Zur Färbung des Parasiten gibt die von Leishman modifizierte Romanowskische Methode sehr gute Resultate. Färbt man *Trypanosoma* auf diese Art, so erscheinen Kern, Kernkörper und Geißel rot, das Protoplasma blau, während die undulierende Membran fast ungefärbt bleibt.

Der Kern (Nucleus) ist gewöhnlich groß und von wechselnder Gestalt. Er ist gewöhnlich in der Hinterhälfte des Parasiten gelegen.

Der Micronucleus (Plimmer und Bradford) oder das Centrosoma (Laveran und Mesnil) zeigt keine deutliche Struktur. Er färbt sich rot, aber in viel lebhafterem Farbenton, als der Kern. Er ist sehr nahe am hinteren Ende des Parasiten gelegen und gewöhnlich außerhalb der Vakuole.

Die Vakuole ist oval und von größerem Umfange. Sie ist vor dem Micronucleus gelegen. Die Geißel nimmt ihren Ursprung augenscheinlich vom Micronucleus, folgt dann dem äußeren Rand der undulierenden Membran, erreicht das vordere Ende und wird hier frei. Der freie Teil der Geißel ist gewöhnlich länger als bei anderen Trypanosomen.

Das Protoplasma färbt sich nicht gleichmäßig und nicht sehr intensiv. Es zeigt einige chromatische Körner.

Die gesamte Länge des Parasiten beträgt 16—24 μ , die Breite 2—2,5 μ .

Vorstehende Beschreibung zeigt, daß das *Trypanosoma* der Schlafkrankheit häufig einige geringe morphologische Abweichungen darbietet von den anderen, schon bekannten Arten von *Trypanosoma* (*Tr. Evansi*, *Tr. Brucei*, *Tr. equiperdum* (Doflein), *Tr. Neveuï* (Sambon) seu *Gambiense* (Dutton) etc.

Nach meiner Erfahrung sind vielleicht charakteristische Merkmale des *Trypanosoma* bei Schlafkrankheit: Der häufig sehr nach dem hinteren Ende gelegene Micronucleus, der viel größeren Umfang der Vakuole und der Geißel, welche gewöhnlich die anderen Arten an Länge übertrifft. Manchmal allerdings sind diese morphologischen Kennzeichen nicht konstant, wie überhaupt die morphologischen Merkmale keiner *Trypanosoma*-Art konstant sind. Ich meine, man muß zugeben, daß manche Arten von *Trypanosoma* (*Tr. Evansi*, *Tr. Brucei* etc.) sehr geringe und inkonstante morphologische Unterschiede zeigen, daß jede aber, da sie eine verschiedene Krankheit verursacht, sicherlich sich in ihrem biologischen Verhalten unterscheiden muß. Es ist interessant, zu bemerken, daß, während die anderen Trypanosomen (z. B. *T. Gambiense*) nach den Beschreibungen der Autoren sich gewöhnlich mit der Geißel vorwärts bewegen, das *Trypanosoma* der Schlafkrankheit sich stets mit dem sogenannten hinteren Leibesende vorwärts bewegt.

1) Ich möchte hier betonen, daß die Bewegung stets mit dem sogenannten hinteren Ende nach vorwärts erfolgte!

Entwicklungsformen des Parasiten.

In dem dem Finger, besonders in den letzten Krankheitsstadien, entnommenen Blute, in dem Blut des Herzens, sowie auch in der Cerebrospinalflüssigkeit, habe ich rundliche Körper von 8–12 μ Durchmesser gesehen, mit einer oder mehr Vakuolen. Diese, nach der Methode von Romanowsky-Leishman gefärbten Körper zeigen zwei oder mehr Punkte, an denen das Chromatin sich sammelt, und ein oder mehrere feine Geißeln. Ich bin geneigt, diese Körper als Entwicklungsstufen von *Trypanosoma* anzusehen, da etwas Aehnliches von Kempner und Rabinowitsch bei *Trypanosoma Lewisi* beschrieben worden ist. Man kann diese Körper in Fig. 7 u. 8 sehen.

In der Cerebrospinalflüssigkeit findet man neben diesen Körpern einige andere, sehr kleine Körper von 5–7 μ Durchmesser. Diese zeigen einen Macronucleus und einen Micronucleus, von dem zuweilen eine Geißel entspringt.

Fig. 11 u. 12 zeigen des Aussehen dieser Körper. Es sind die „amöboiden Formen“, wie sie von Plimmert und Bradford bei *Trypanosoma Brucei* beschrieben sind.

Selbstverständlich habe ich neben der mikroskopischen Prüfung der Cerebrospinalflüssigkeit und des Blutes, die zur Entdeckung des Trypanosomen führte, auch umfangreiche bakteriologische Untersuchungen gemacht.

Bei der Autopsie konnte ich in ca. 80 Proz. der Fälle Streptokokken gewinnen. Ich erhielt dieselben aus dem Herzblut in 32, aus der Cerebrospinalflüssigkeit in 30 Fällen bei einem Totale von 39 Autopsieen.

In mikroskopischen Schnitten verschiedener Organe findet man den Mikroorganismus meistens nicht; sehr selten ist derselbe in der Milz anzutreffen.

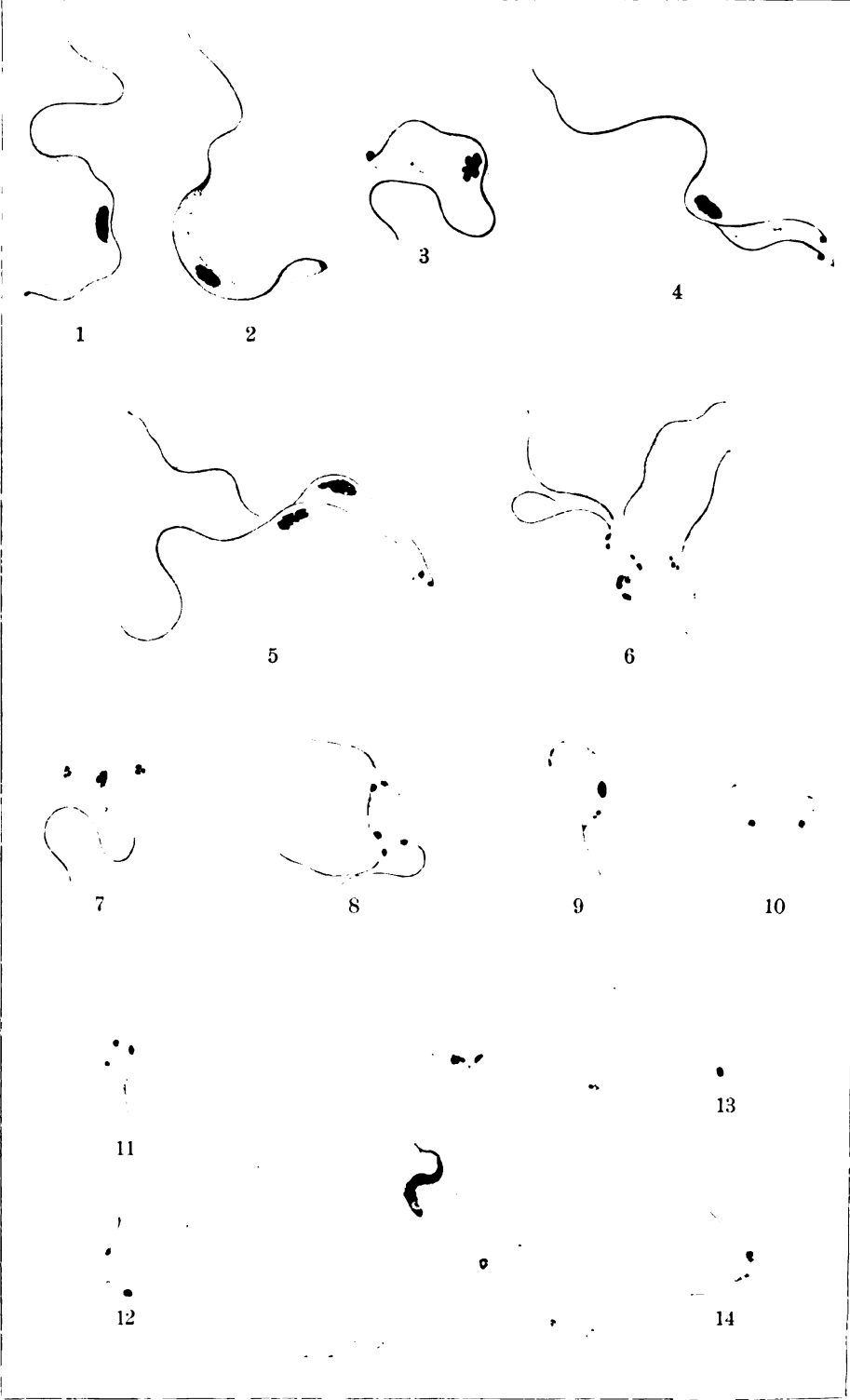
Intra vitam gelang mir die Auffindung des Mikroorganismus sehr selten. Ich habe zu wiederholten Malen bei jedem der 37 Kranken die bakteriologische Untersuchung des Blutes vorgenommen und habe nur in einem Falle ein positives Resultat erhalten, und auch das nur einige Stunden vor dem Tode. Bei 28 Patienten nahm ich die Lumbalpunktion vor, und zwar mehrere Male an denselben Patienten. Der Befund war nur in 5 Fällen ein positiver. Auch in diesen Fällen war das Ergebnis nur einige Stunden vor dem Tode ein positives, mit Ausnahme von einem Falle, bei dem ich einige Tage vor dem Exitus einen positiven Befund erheben konnte. Den Harn untersuchte ich in 6 Fällen, in einem Falle war der Befund positiv, in diesem Falle fand ich auch den Mikroorganismus im Blute. Die bei 3 Patienten vorgenommene Milzpunktion ergab ein negatives Resultat. Ich halte diese Streptokokken für sekundäre Infektionserreger.

Schlußfolgerungen.

Die Ergebnisse meiner ganzen Untersuchung zusammengefaßt, sind folgende:

In der großen Mehrzahl der Fälle von Schlafkrankheit ist in der zu Lebzeiten mittels Lumbalpunktion entnommenen Cerebrospinalflüssigkeit ein *Trypanosoma* anwesend.

Dies *Trypanosoma* kann auch im Blute der Patienten gefunden werden.



Die größere Schwierigkeit, dasselbe im Blut zu finden, ist wahrscheinlich dadurch verursacht, daß man vom Blut nicht dieselbe Menge wie bei der Cerebrospinalflüssigkeit zur Untersuchung verwenden kann.

Im Blut sowohl wie in der Cerebrospinalflüssigkeit habe ich besondere Körper beobachtet, die ich geneigt bin, für Entwicklungsstufen von *Trypanosoma* zu halten.

Aus meinen Untersuchungen möchte ich die Schlußfolgerungen ziehen, daß die Schlafkrankheit aller Wahrscheinlichkeit nach von dem, von mir beschriebenen *Trypanosoma* verursacht ist (*Trypanosoma Castellani* Kruse).

Ich habe in Uganda keine Experimente machen können in Betreff der Infektionsübertragung, aber in Analogie anderer derartiger Krankheiten (Nagana, Surra) ist unzuzunehmen, daß wahrscheinlich ein Insekt der Träger der Infektion sein wird. In Uganda sind verschiedene Fliegen, welche zur Tse-Tse-Gruppe gehören. Eine von diesen wird sich vielleicht als Träger der Infektion erweisen.

1. Juli 1903.

Literatur.

- Brault et Lapin, Arch. de Paras. 1898. No. 3.
 Broden, Acad. de Royale de med. de Belgique. 1901.
 Cagigal et Lepierre, cit. bei Scheube, Die Krankheiten der warmen Länder. p. 565.
 Castellani, Journ. of Trop. Med. 1. June 1903; Brit. med. Journ. June 20. 1903.
 Dutton-Thompson, Yates Lab. Report. 1902.
 Kruse, Ueber das *Trypanosoma Castellani*, den Erreger der Schlafkrankheit der Neger. (Sitzungsber. der Niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilk. zu Bonn, 18. Mai 1903.)
 Laveran et Mesnil, Sur le mode de multiplication du *Trypanosome* du Nagana. (Compt. rend. des séances de la Soc. de Biol. 1901.)
 Le Lanec, Arch. clin. de Bordeaux. 1898.
 Low, Br. Med. Journ. 1903.
 Manson, Trop. diseases. 1903.
 Marchoux, Ann. Inst. Pasteur. 1899. No. 3.
 Plimmer and Bradford, Quart. Journ. of Micr. Sc. Febr. 1898.
 Ziemann, Centralbl. f. Bakt. 1902.

Tafelerklärung.

- Fig. 1—2. Erwachsene Formen.
 Fig. 3. *Trypanosoma*, welche sich vergrößert hat, wahrscheinlich vor der Längsteilung.
 Fig. 4—5. Längsteilung.
 Fig. 6. Fusionsformen.
 Fig. 7—10. Verschiedene Entwicklungsformen (Vorbereitungen zu geschlechtlichen Vorgängen).
 Fig. 11—14. Amöboide Formen?

Nachdruck verboten.

Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung.

Von **Moritz Silberstein**, Schiffsarzt, Amsterdam.

Im Mai 1899, während einer Sitzung der Berliner medizinischen Gesellschaft, gab ein Vortrag Plehns über eigentümliche, in den Blutkörperchen von Malariakranken vorkommende Körnungen, welche dieser Gelehrte wegen ihrer Affinität zu basischen Farbstoffen als basophile, oder weil die gleiche Affinität auch die Kernsubstanzen charakterisieren sollte, als karyochromatophile bezeichnete, Veranlassung zu einer eingehenden Diskussion, welche noch in den Sitzungen vom 16. und 30. Oktober sowie 6. November fortgesetzt wurde.

Plehn faßte diese Körnungen, welche vor ihm auch schon andere bei Malaria gesehen hatten, so z. B. Marchiafava bei menschlicher und Ziemann bei Rindermalaria, als die langgesuchten Latenzformen der Malaria auf. Als solche sollten sie im stande sein, sich zu vermehren, durch ihren Lebensprozeß das Blutkörperchen zu zerstören und in echte Malariaparasiten überzugehen. Als charakteristisch wurde vom Autor ihre häufige Anordnung zu zweien angeführt, welche den Eindruck erweckte, als ob sie durch Teilung entstanden sei. Sie sollten kurz vor einem Anfall am zahlreichsten im Blute vorhanden sein, später aber abnehmen. Auch sollte man kurz vor einem Anfall deutliche Uebergänge von einzelnen dieser Körner zu Malariaparasiten wahrnehmen können.

In der an die Mitteilungen Plehns sich anschließenden Besprechung begegneten dieselben einer allgemeinen Opposition. Ausnahmslos bekämpfte man die Spezifität der basophilen Körnungen, indem von den verschiedensten Seiten darauf hingewiesen wurde, daß dergleichen Körnungen bei vielen Krankheitsprozessen vorkämen, die mit Malaria gar nichts zu tun hätten und schon seit langem durch die Arbeiten von Askanazy, Grawitz, Ehrlich, Lazarus, Gabritschewsky, Smith, Walker etc. bekannt seien. So fänden sie sich bei anämischen Prozessen, namentlich perniziöser Art, bei Kachexien durch Krebs, im Saturnismus. Ja Ullmann behauptete selbst, sie bei ganz gesunden Individuen gefunden zu haben. Von Virchow wurde bei dieser Gelegenheit darauf hingewiesen, daß Schmauch ganz dieselben Gebilde bei Katzen beschrieben habe, während Engel sie bei Embryonen von Mäusen gesehen hatte.

Es folgte daraus, daß man auch den zweiten Teil der Plehnschen Hypothese, nämlich daß die in Frage kommenden Körnungen belebte Wesen seien, nicht gelten lassen konnte. Ueber ihre eigentliche Bedeutung aber bestand eine Kontroverse. Die einen sahen in den Körnungen Degenerationserscheinungen des Hämoglobins, andere die Trümmer von Blutkörperkernen, und noch andere faßten sie ganz im allgemeinen als das Merkmal embryonaler Formen auf. Also auf der einen Seite erblickte man in ihnen ein Zeichen des Unterganges, auf der anderen im Gegenteil ein Zeichen der Jugend eines Blutkörperchens. Gewiß zwei weit auseinandergelagerte und nicht zu vereinigende Gesichtspunkte.

Dieser selbe Gegensatz findet sich übrigens auch in der über die multiplen Körnungen bestehenden Literatur, obwohl in den letzten Jahren namhafte Malariaautoren und Blutpathologen sich mehr für die degenera-

tive Natur derselben ausgesprochen haben, ohne indes genügende Beweise hierfür zu bringen. So Ziemann, Ruge, Scheube, Grawitz. Manson gibt in seinem Buche „tropical diseases“ eine sehr primitive Abbildung der multiplen Körnungen, und, nachdem er ebenfalls auf ihr Vorkommen auch in nichtmalarischem Blute hingewiesen, läßt er auch seinerseits die Möglichkeit zu, daß sie Produkte degenerativer Natur seien.

In einer im Jahre 1901 erschienenen Monographie (Weiteres über Malaria, Immunität und Latenzperiode) hält Plehn jedoch seinen Standpunkt aufrecht. Zwar gibt er zu, daß basophile Körnungen auch anderen Krankheitsprozessen zukommen, auch verschließt er sich nicht den Deutungen, welche dieselben von verschiedenen Autoren erfahren haben, und ist geneigt, auch im Malariablute manche multiplen Körnungen als degenerative, andere als embryonale Bildungen zu betrachten. Doch hält er namentlich gewisse Formen solitärer Körner mit aller Bestimmtheit für Latenzformen. Von diesen fänden sich Uebergänge zu mehr multiplen Körnerbildungen, die den sonst als basophile beschriebenen außerordentlich ähnlich seien, von denen sie sich jedoch durch ihre Spezifität unterscheiden, indem sie eben belebte Dinge vorstellten.

Plehn verfährt sich ausdrücklich dagegen, daß man seine Körnerbildungen als sekundäre, durch die Lebenstätigkeit der Parasiten bedingte Produkte betrachte und sie lediglich als Modifikationen des Hämoglobins im Blutkörperchen auffasse. Als Latenzformen und Vorstufen der Malariaparasiten fänden sie sich vor ihnen im Blute und auch später, wenn Parasiten schon längst aus der Zirkulation geschwunden wären, unterhielten sie die Infektion. Sie leben auf Kosten des Blutkörperchens. Plehn weist ihnen demnach auch eine große Rolle bei der Entstehung der tropischen Anämie zu. Auch dienen sie zur theoretischen Stütze für die Wirksamkeit seiner empirisch gefundenen prophylaktischen Malariabehandlung in Kamerun. Eine längere Reihe von experimentellen und klinischen Beobachtungen wird vom Autor ins Feld geführt, und viel Nachdruck wird nochmals auf das tinktorielle Verhalten der Latenzformen, solitärer wie multipler gelegt, welches mit demjenigen des Chromatinkornes im Malariaparasiten übereinstimmen solle. Abbildungen, welche der Monographie beigelegt sind, machen einen recht bestechenden Eindruck.

Da es mir von hohem Interesse schien, eine Klarstellung dieser für die Malariopathologie unstreitig wichtigen Frage zu erreichen, so habe ich mich bemüht, im folgenden eine solche zu versuchen.

Man unterscheidet im Blute Malariakranker nach Plehn zweierlei Formen von Körnerbildungen, solitäre und multiple. Erstere finden sich in einem Blutkörperchen nur vereinzelt, in wenigen Exemplaren vor, letztere dagegen treten in größeren Anhäufungen auf. Obwohl vielfach über die Bedeutung dieser Körnungen diskutiert worden ist, vermisste ich jedoch eine wirklich genaue Beschreibung derselben. Stets hört man von Punktierungen sprechen, wodurch der Eindruck hervorgerufen wird, als ob man es ausschließlich mit runden Dingen zu tun habe, ohne weitere Differenzierung als solche quantitativer und dimensionaler Natur. Auf diese Unbestimmtheit in der Beschreibung ist das Verhalten Plehns gegenüber den Einwürfen der Autoren zurückzuführen. Sie gestattet ihm nicht, seine Körnungen mit den in anderen Krankheitsprozessen vorkommenden genauer zu vergleichen und sie scharf von ihnen zu scheiden. Indem er die große Aehnlichkeit zugibt, welche

zwischen seinen Latenzformen und den bei anderen Krankheiten vorkommenden multiplen Körnungen besteht, zugleich aber an der Spezifität der seinigen festhält, verschwindet für ihn jede Möglichkeit der Vergleichung und Unterscheidung. Handelt es sich einfach um Körnchen, rund und zirkumskript, die sich mit basischen Farbstoffen färben, so kann man mit Recht fragen, ob solche Körnchen, wenn man ihnen in verschiedenen Krankheitsprozessen begegnet, nicht auch häufig verschiedene Dinge sind, die nur ihr tinktorielles Verhalten gemeinsam haben. Gibt es aber bei genauer Betrachtung der bei Malaria vorkommenden Körnungen gewisse, stets wiederkehrende, gut differenzierbare morphologische Charaktere, so ist damit ein Mittel der Vergleichung an die Hand gegeben, welches alle Unbestimmtheit ausschließt und als Grundlage dienen kann für alle Erörterungen über Spezifität oder Nichtspezifität.

Es sei mir daher gestattet, die bisherigen Beschreibungen der Körnungen zu vervollständigen:

a) Multiple Körnungen.

Auf den ersten Blick und bei mäßigen Vergrößerungen sieht man ein gewöhnlich metachromatisch gefärbtes und vergrößertes Blutkörperchen von kleinen, runden, dunkel gefärbten Körnern in der Anzahl von 20–30 erfüllt, deren Größe ungleich ist. Infolge ihrer häufigen Anordnung zu zweien oder dreien bieten sie meist ein sehr zierliches Bild. Bedient man sich stärkerer Vergrößerungen, so sieht man, daß zwischen den eben beschriebenen Körnern oft noch zahlreiche andere, aber viel kleinere, nicht selten staubförmig kleine, vorhanden sind. Ferner erkennt man, daß die Anordnung zu zweien oder dreien der größeren Körner vielfach eine nur scheinbare ist. In Wirklichkeit besteht zwischen dicht beieinander liegenden Körnern oft ein schmales, meist bogenförmiges Verbindungsstück, sodaß zu zweien beieinander liegende Körner an hantelförmige Figuren erinnern. Unter diesen fallen einzelne hin und wieder dadurch auf, daß nur der eine Kopf der Hantel gut gefärbt hervortritt, während der übrige Teil, weil in der Tiefe der Blutkörpersubstanz gleichsam versenkt, sich nur als feiner, bogenförmiger, zarter Kontur verrät. Was die zu dreien angeordneten Körner betrifft, so walten hier ähnliche Verhältnisse vor. Sie liegen entweder durch einen schmalen, deutlich erkennbaren Zwischenraum getrennt, nebeneinander, oder sind durch leicht bogig gestaltete, zarte Verbindungsstücke zusammengehalten. Verlaufen diese Verbindungsstücke mehr in gerader Richtung, so erhält man stäbchenartige Bildungen, in deren Verlauf die Körner als minimale Anschwellungen hervortreten. Wo dies aber, wegen der Kleinheit der Körner nicht der Fall ist, sieht man ein einfaches, scharf gezeichnetes Stäbchen. Dieses Stäbchen vermißt man in einem Blutkörperchen mit multiplen Körnungen nicht häufig. Gewöhnlich ist nur eines vorhanden, aber auch zwei und drei kommen vor. Das ist das Bild der multiplen Körnungen, denen man im Malaria blute ausnahmslos begegnet, ein anderes gibt es nicht, und wenn Plehn von der Möglichkeit verschiedener Formen von multiplen Körnungen mit verschiedener Bedeutung bei Malariakranken spricht, so liegt das eben daran, daß ihm noch ein detailliertes Bild seiner Körnungen fehlte. An das soeben entworfene Bild muß man sich halten, wenn man bei anderen Krankheitsprozessen vorkommende multiple Körnungen vergleichen oder identifizieren will.

Wir kommen jetzt zu der Frage: Sind die so beschriebenen Körnerbildungen für das Malariablut spezifisch oder nicht? Und ferner: Welches ist ihre Bedeutung?

Bei der Beantwortung der ersten Frage war ich infolge der Abgeschlossenheit meiner Stellung nicht in der Lage, die ganze Reihe von Krankheitsprozessen zur Vergleichung heranzuziehen, bei denen die oben angeführten Autoren ähnliche Körnungen, wie die im Malariablute vorkommenden, gesehen haben wollen, so daß ich auch nicht sagen kann, ob hier wirklich überall eine völlige Identität vorwalte. Doch ging ich von dem Standpunkte aus, daß es für die Auffassung von Körnungen von entscheidender Bedeutung sein müsse, wenn es gelänge, dieselben auch bei ganz Gesunden, von Malaria freien Individuen nachzuweisen. Es war nur nötig, die diesbezüglichen Angaben von Ullmann nachzuprüfen und zu sehen, ob die von ihm bei Gesunden vorgefundenen multiplen Körnungen in allen Stücken unserem Bilde entsprachen, welches wir für die multiplen Körnungen der Malaria entworfen haben. Bestätigten sich die Angaben Ullmanns, dann mußte auch die Hypothese von der Spezifität der multiplen Körnungen für den Malariaprozeß fallen, und dann war eine Ausdehnung der Untersuchung auf andere Krankheiten für die Lösung dieser uns hier interessierenden Frage nicht mehr nötig.

Für die betreffenden Untersuchungen wurden anfänglich ganz gesunde holländische Schiffsjungen herangezogen, die zum ersten Male an Bord gekommen und noch nie in den Tropen gewesen waren. Ich verfüge im ganzen über 7 Fälle dieser Kategorie. Alle haben längere Zeit unter meinen Augen gelebt und sind stets, auch in den Tropen, frei von Malaria geblieben. Unter diesen 7 Fällen fanden sich nun in 5 mit aller Deutlichkeit unsere multiplen Körnungen vor. Sie entsprachen den bei Malaria vorkommenden in jeder Hinsicht. Die hantelförmigen Figuren, das Stäbchen, alles war vorhanden. Nur waren die Blutkörperchen, welche diese Körnungen enthielten, sehr spärlich. Man mußte mühsam suchen. Von jedem Falle wurden zwei Präparate gemacht und nach Romanowsky behandelt. Dabei kam es vor, daß erst im zweiten Präparate ein Resultat erreicht wurde. Auf Grund dieses Ergebnisses sind wir also berechtigt, die Spezifität der multiplen Körnungen für den Malariaprozeß zurückzuweisen. Doch gibt es einen Einwurf gegen unsere Schlußfolgerung. Man könnte nämlich sagen, Holland sei ein Malarialand, und alle die jungen Leute, bei denen der Befund im Blute positiv war, hätten sich im Zustande latenter Infektion befunden. Obwohl nun bei sorgfältigster Befragung und längerer Beobachtung sich kein Anhaltspunkt für eine solche Annahme fand, so war doch für jemand, der zum Zweifel geneigt ist, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen. Deshalb habe ich Holländer im Verfolge nicht mehr untersucht, sondern mein Material aus jungen Deutschen gewählt, die als Kolonialsoldaten nach Niederländisch-Indien gingen.

Die untersuchten Fälle sind die folgenden:

1) Füsilier S., geboren im Rheinland, hat in Trier gedient und verläßt die Heimat zum ersten Male. Im dritten Präparat tritt ein fein gekörntes, metachromatisch gefärbtes Blutkörperchen auf. Die Körnungen entsprechen genau dem oben angegebenen Typus. Im vierten Präparat finden sich drei solcher Blutkörperchen.

2) Füsilier K., geboren in Nassau, hat in Darmstadt gedient und die Chinaexpedition mitgemacht, während welcher er niemals krank ge-

wesen ist. K. ist sehr kräftig. Deutliche Körnungen von typischem Charakter in metachromatischen Blutkörperchen. Die Körnungen sind fein, aber doch scharf gezeichnet.

3) Füsilier V., geboren in Wesel, hat in Metz gedient und sich später als Schiffer häufig in Holland aufgehalten. Blutuntersuchung negativ.

4) Füsilier Str., geboren zu Mühldorf in Bayern, hat in Neuburg gedient, in Ungarn, Türkei, Schweden, Norwegen zeitweise gelebt und nie Malariafieber gehabt. Sehr deutliche metachromatische und vergrößerte Blutkörperchen mit multiplen Körnungen, im ganzen aber spärlich.

5) Füsilier St., geboren in Düsseldorf, hat in Mainz gedient und sich vorübergehend in der Schweiz und Italien aufgehalten, hat nie Malaria gehabt. Blutuntersuchung negativ.

6) Füsilier B., geboren in Thüringen, hat in Mainz gedient und später 13 Monate in London gelebt, hat nie an Malaria gelitten und zeigt im Blute vereinzelt, aber sehr deutlich gekörnte Blutkörperchen vom bekannten Typus.

7) Füsilier Z., geboren in Prag, hat in Leitmeritz gedient und sich später in Sachsen aufgehalten, hat nie Malaria gehabt. Spärliche gekörnte Blutkörperchen.

8) Füsilier Z., geboren in Torgau, hat in Straßburg gedient. Sehr spärliche gekörnte Blutkörperchen.

Ueberblicken wir das Resultat unserer vergleichenden Blutuntersuchungen, so ergibt sich, daß unter 8 Fällen dasselbe nur zweimal negativ geblieben ist. Nun konnten aus äußeren Gründen gerade von diesen beiden nur je zwei Präparate angefertigt werden. Vielleicht würden sich auch bei diesen im weiteren Verlaufe gekörnte Blutkörperchen gefunden haben. Jedenfalls war bei allen Malaria ausgeschlossen, und doch fanden sich, wenn auch stets spärlich, die charakteristischen Körnungen vor. Also auch diese Serie von Untersuchungen zwingt uns, die Spezifität der Körnungen für den Malariaprozeß zurückzuweisen. Sie finden sich bei ganz Gesunden.

Obwohl nun die uns beschäftigende Frage auf diese Weise erledigt ist, so habe ich doch, soweit es mir möglich war, einige Krankheitsprozesse zur Vergleichung herangezogen. So fanden sich multiple Körnungen in ziemlich beträchtlicher Zahl, die ganz den bei Malaria und Gesunden vorkommenden glichen bei einem gesunden holländischen Rekruten mit *Roseola syphilitica*. Patient war noch nie in den Tropen gewesen und hat nie an Malaria gelitten. Ebenso waren sie in sehr beträchtlicher Zahl bei einer 72-jährigen Dame vorhanden, die infolge einer pneumonischen Erkrankung ca. 10 Tage lang an einem subkontinuierlichen Fieber litt. Patientin hatte in den letzten 8 Jahren in Holland gelebt und sich dort einer ausgezeichneten Gesundheit erfreut. Ein Maschinist mit unregelmäßig intermittierender Trigeminusneuralgie, den ich seit 4 Jahren kenne und der innerhalb dieser Zeit nie an Malaria gelitten, zeigte in seinem Blute zahlreiche multiple Körnungen. Ein 3-jähriges, in Indien geborenes Kind litt an einer chronischen, wahrscheinlich follikulären Enteritis mit geringen abendlichen Temperatursteigerungen. Keine Milzschwellung, hoher Grad von Anämie. Chinin stets ohne Wirkung. Die Seereise hatte keinen Einfluß auf den Zustand, Wiederholte Blutuntersuchungen gaben nicht den geringsten Anhaltspunkt für Malaria. Dagegen bestand starke Leukocytose, sehr geringer

Hämoglobingehalt, Megalo- und Mikrocyten, sowie sehr viele Blutkörperchen mit multiplen Körnungen.

Muß demnach der Gedanke, daß die bei der Malaria anzutreffenden multiplen basophilen Körnungen eine spezifische Bedeutung haben, fallen gelassen werden, so ist doch andererseits zuzugeben, das sie gerade hier besonders häufig vorkommen. Unbegreiflich klingt daher die Behauptung Blochs, der ihr Vorkommen bei Malaria einfach in Abrede stellt. Es gibt selbst gewisse Merkmale, die, wenn sie vorhanden sind, mit aller Sicherheit darauf hinweisen, daß multiple Körnungen einem Malariablute angehören. Hier sollen vorläufig nur zwei derselben angeführt werden. Einmal trifft man zwischen den Körnern, häufig in der Mitte, aber auch gegen den Rand der Blutscheibe hin, ein unregelmäßig gestaltetes Fleckchen, daß sich ganz wie die Körner färbt, aber in jedem Falle größer, oft bedeutend größer ist, wie diese. Sodann geringe Anhäufung eines bräunlichen Pigments, das entweder von dem Fleckchen getrennt liegt, oder, seltener, in ihm enthalten ist. Beides sind Einlagerungen, welche auf die frühere Anwesenheit eines Parasiten hindeuten, von welchen sie die Reste vorstellen. Dies soll weiter unten im Zusammenhange erörtert werden.

Unter den Gründen, auf welche Plehn, bei seinem Bestreben, die multiplen und solitären Körnungen als Latenzformen der Malariaparasiten darzustellen, sich besonders stützt, nimmt eine erste Stelle das tinktorielle Verhalten dieser Körnungen ein. Es ziemt sich daher, hierauf etwas näher einzugehen. Allgemein wird ihre Affinität zu den basischen Farbstoffen hervorgehoben, weshalb man ihnen auch den Namen basophile Körnungen beigelegt hat. Da die Kernsubstanzen der Zellen dasselbe Verhalten zeigen, so hat Plehn die Körnungen auch Karyochromatophilen genannt. Weil nun das Körnchen im Malariaparasiten die gleiche Affinität zu den basischen Farben besitzt, so meinte er, in seinen karyochromatophilen Körnungen, den multiplen sowohl wie den weiter unten zu besprechenden solitären, Vorstufen der Malariaparasiten sehen zu dürfen. Er ging dabei von der unstreitbar richtigen Erwägung aus, daß die Kernsubstanzen des Malariaparasiten, das sogenannte Chromatin, nicht verloren gehen könne, welches auch die weiteren morphologischen Evolutionen des Parasiten seien. So z. B. ist während des ganzen Entwicklungszyklus des Parasiten im Mosquitoleibe, bei aller Abweichung von derjenigen im menschlichen Blute, der Chromatinbestandteil stets vorhanden. Er ist eben, wie jeder Zellkern, das Essentielle, woran alle Entwicklung gebunden ist. Er kann also auch nicht in den Latenzformen fehlen, wie sie auch sonst beschaffen sein mögen. Die vollkommene Uebereinstimmung im tinktoriellen Verhalten der basophilen Körnungen im Malariablute mit dem Chromatinkorn des Malariaparasiten wäre allerdings ein zu beachtendes Faktum, wenn es sich wirklich so verhielte, wie Plehn angibt.

Nun ist selbst bei Methylenblaufärbung unschwer zu erkennen, daß die multiplen und die meisten der solitären Körner sich nicht schön blau, wie die Kernsubstanzen, sondern eher schwärzlich färben. Ganz besonders tritt dies hervor, wenn man sich der Romanowsky-Methode bedient. Hier erscheinen sämtliche Körnungen beinahe schwarz, ebenso das Fleckchen. Das Chromatinkorn des Malariaparasiten aber färbt sich dabei rot-violett. Also ein schlagender Beweis, daß die multiplen Körnungen nicht in Beziehung zu dem Korn des Malariaparasiten gebracht werden können. Ebenso wenig zu irgend welchen anderen Kernsubstanzen;

denn sowohl die Kerne der Leukocyten wie die der embryonalen Blutkörperchen verhalten sich ganz wie das Chromatinkorn des Malaria-parasiten, also auch sie erscheinen rot-violett. Demnach kann man höchstens von basophilen Körnungen sprechen, der Ausdruck karyochromatophil aber ist ganz unberechtigt. Gilt dies von allen multiplen Körnungen ohne Ausnahme, so ist bezüglich der solitären im Malaria-blute zu bemerken, daß hin und wieder einzelne derselben sich wirklich rot-violett färben. Diese letzteren sind aber von ihren schwarz-blauen Nachbarn ihrem Wesen und Ursprunge nach gänzlich verschieden. Dies wird weiter unten gezeigt werden, wo von den solitären Körnungen im Zusammenhange gehandelt werden soll.

Nachdem sich also ergeben hat, daß es nur eine Art multipler Körnungen im Malariablute gibt, daß dieselben sich in nichts von den bei Gesunden vorkommenden unterscheidet, und daß die für eine Reihe von Krankheiten beschriebenen wahrscheinlich mit ihnen identisch sind, so stehen wir nunmehr vor unserer zweiten Frage: Was ist die Bedeutung dieser Körnungen?

Die Autoren, welche sich damit beschäftigt haben, nehmen, wie schon eingangs angedeutet, drei verschiedene Standpunkte ein.

Wir wollen ihre Ansichten einer näheren Betrachtung unterziehen:

Nach der ersten stammen sie von den Kernen der Erythroblasten ab, also von embryonalen Blutkörperformen, deren Reste sie seien. Sie sollen einer Art Karyolyse ihren Ursprung verdanken. Als Vertreter dieser Auffassung sind Engel, Lazarus, Grawitz zu nennen. Letzterer namentlich hat bei perniziöser Anämie direkte Uebergangsformen von Erythroblastenkernen zu multiplen, basophilen Körnungen gesehen. Mit Recht weist Plehn darauf hin, daß man doch Erythroblastenkernen und ihren Uebergängen zu multiplen Körnungen namentlich in allen den Fällen von Malaria, wo multiple Körnungen zahlreich vorhanden sind, einmal begegnen müßte, wenn die angeführte Aetiologie für die Entstehung unserer Körnungen wirklich die zutreffende wäre. Letzteres ist aber nicht der Fall. Auch mir sind bei Malaria derartige Formen nicht begegnet, ebensowenig im Blute von Gesunden. Auch kann ich aus Mangel an eigenen Erfahrungen nicht beurteilen, ob die der Karyolyse bei perniziöser Anämie entstammenden Körnerbildungen morphologisch mit den uns hier beschäftigenden übereinstimmen, deren Bild wir zu Anfang gegeben haben. Wahrscheinlich ist es nicht. Haben wir doch gezeigt, daß das tinktorielle Verhalten unserer Körnungen gegen eine Ableitung derselben von Kernsubstanzen irgend welcher Art spricht.

Auch noch auf einem anderen Wege ist der Frage, ob unsere basophilen Körnungen mit dem Kerne der Erythroblasten in Beziehung gebracht werden können, näherzutreten, nämlich durch das Studium der Erythroblasten im Blute Neugeborener.

Behandelt man fixiertes Blut von Neugeborenen nach Romanowsky, so erkennt man kurz folgendes:

Kernhaltige Blutkörperchen finden sich in großer Zahl. Meist sind sie gegenüber den kernlosen vergrößert, selten kleiner. Stets nehmen sie den metachromatischen Farbenton an. Die Kerne fallen durch ihre Dimensionen auf. Sie erreichen $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Blutkörperchengröße und färben sich in schönem Chromatinton, rotviolett. Häufig zeigen sie an zwei gegenüberliegenden Polen einen kleinen, warzenförmigen Aufsatz, in anderen Fällen ist die ganze Peripherie mit solchen warzenförmigen Ge-

bilden besetzt, als ob das Chromatin in Tröpfchen teilweise ausgepreßt worden wäre. Manche Kerne sind zwerchsackähnlich oder gelappt gestaltet. Hin und wieder ist ein Kern in zwei oder mehrere, gleiche oder ungleiche Teilstücke zerfallen. Meist entspricht die Lage des Kernes dem Zentrum, doch nicht selten ist er gegen die Peripherie des Blutkörperchens verschoben und überragt diese selbst teilweise. Vielfach kommen freie Kerne vor. Offenbar vollzieht sich der Uebergang aus dem kernhaltigen in den kernlosen Zustand in einem Teile der Fälle einfach durch Ausstoßung des Kernes. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle aber treten an ihm innerhalb seines Blutkörperchens eine Reihe von Veränderungen auf, die auf eine gänzliche Auflösung und allmählichen Schwund in toto hinweisen. Zunächst treten innerhalb der gleichmäßig rotviolett gefärbten Kernscheibe hellere Stellen auf, die wie Lücken in ihrer Substanz erscheinen. Dieselben vermehren und vergrößern sich derartig, daß sie an ihrem einen Ende die Peripherie, an dem anderen das Zentrum erreichen. So kommt es zu einer radspeichenartigen Gestaltung der Kernscheibe, in der die Speichen durch die im Chromatinton gefärbten Teile der Kernsubstanz vorgestellt werden. Die Speichen sind an ihrer Peripherie nicht scharf gezeichnet, sondern erscheinen wie zerzaust. Gleichzeitig tritt eine deutliche Kernmembran in Erscheinung. Im weiteren Verlaufe schwindet die eben beschriebene Differenzierung. Der Kern ist in einen allerfeinsten Detritus zerfallen, etwas aufgequollen und nimmt den Farbstoff in immer schwächerem Grade an. Zuletzt ist er aber so abgeblaßt, daß er nur mit Mühe von seiner Umgebung unterschieden werden kann. Aus diesem Zustande folgt der Uebergang in den definitiven kernlosen Zustand. Solange aber noch etwas vom Kerne unterscheidbar ist, präsentiert er sich als zusammenhängendes, scheibenförmiges Gebilde. Von einer Auflösung in isolierte multiple Körner, wie sie oben beschrieben wurde, war nie eine Spur zu konstatieren. Ebensowenig fand sich in diesem jungen Blute auch nur ein einziges Blutkörperchen, daß diese Art der Körner aufgewiesen hätte.

Die zweite Ansicht findet ihre Vertreter in Smith, Walker, Askanazy u. a. Nach ihnen sind die gekörnten Blutkörperchen unfertige, junge Elemente und die Körnungen der Ausdruck einer stellenweisen Eigentümlichkeit in der molekularen Zusammensetzung des Hämoglobins. Da die Autoren die Körnungen nicht von den Erythroblasten ableiten, so können sie nur ein weiter vorgeschrittenes Stadium im Sinne haben, in dem ein Kern nicht mehr vorhanden ist. Nun findet man im embryonalen menschlichen Blute zahlreiche große und metachromatisch gefärbte Blutscheiben, die bis auf den Mangel des Kernes in allen Charakteren mit kernhaltigen übereinstimmen, und die man also als die in der Entwicklung nächste Stufe bezeichnen kann. Unsere multiplen Körnungen sind aber bei ihnen nicht vorhanden. Auch Erfahrungen klinischer Art sprechen gegen diese Auffassung. So finden sich bei Malariakranken die multiplen Körnungen vorwiegend kurz vor oder im Beginne eines Anfalls, während später ihre Zahl abnimmt. Nun kann man doch nicht annehmen, daß zu einer Zeit, wo die Blutelemente kaum noch in nennenswertem Maße gelitten haben können, schon eine lebhaftere Regenerationstätigkeit der blutbildenden Organe vorhanden sein soll.

Bei einer 72-jährigen, an einer pneumonischen Affektion leidenden Dame (s. o.) waren im Laufe ihres Fieberzustandes sehr zahlreiche Blutkörperchen mit multiplen Körnungen vorhanden. Es ist doch sehr un-

wahrscheinlich, daß diese hochbetagte und durch ihre Krankheit sehr erschöpfte Dame im Verlaufe ihres gefährvollen Zustandes eine weitgehende Erneuerung ihrer Blutbestandteile gehabt habe.

Bei einer Wöchnerin, die unter der Geburt ihres Kindes und später wegen Atonie des Uterus eine ziemlich große Quantität Blut verloren hatte, wurde 3 Tage hintereinander das Blut untersucht. In dieser Zeit mußte, da Patientin sich schnell erholte, eine intensive Regeneration des Blutes stattfinden. Trotzdem wurden Blutkörperchen mit basophilen Körnungen vermißt, was nicht der Fall hätte sein können, wenn denselben die Bedeutung von jungen Formen zukäme.

Vielmehr drängen alle Erwägungen uns zu der letzten und dritten Auffassung des Phänomens der multiplen Körnungen als Degenerationerscheinung des Hämoglobins. Gerade ihr färberisches Verhalten spricht dafür. Es ist schon oben hervorgehoben worden, daß sie sich nicht rein blau, sondern eher schwärzlich, namentlich mit Romanowskys Methode färben. So verhalten sich aber auch andere abgestorbene Elemente, z. B. Reste von Malariaparasiten. Demnach hätten wir es mit multiplen, lokalen Nekrosen des Hämoglobins zu tun. Ein Blutkörperchen, welches dieselben enthält, ist krank, siecht dahin und geht schließlich unter. Wenn ich von Hinsiechen spreche, so geschieht dies in der Absicht, um damit anzudeuten, daß dieser Prozeß des Absterbens ein relativ langsamer, kein akuter sei. Es ergibt sich dies aus Wahrnehmungen bei an tropischer Malaria Erkrankten. Hier sieht man manchmal solche Blutkörperchen durch Parasiten in den verschiedensten Entwicklungsstadien infiziert. Vollständig herangewachsene Parasiten haben also in einem solchen Blutkörperchen alle Bedingungen der Existenz und alle Zeit zur Entwicklung finden können. Ja, hin und wieder trifft man selbst Doppelinfection durch einen großen und kleinen Parasiten an. Dies deutet ohne Zweifel doch darauf hin, daß die Krankheit der Blutscheibe eine relativ protrahierte sei. Daß sie aber krank ist, und zwar an einer Krankheit leidet, die zu ihrer schließlichen Destruktion führt, folgt auch aus dem übrigen Verhalten des Blutkörperchens selbst.

Hat man nämlich Gelegenheit, Entwicklungsstadien der multiplen Körnungen zu beobachten, so zeigt es sich, daß dieselben im Anfange die Peripherie oder nur ein Segment des Blutkörperchens einnehmen, welches selbst sich gewöhnlich noch in keiner Weise von seinen Nachbarn unterscheidet. Später ist das ganze Blutkörperchen von Körnungen erfüllt. Gewöhnlich nun tritt jetzt erst, nicht so selten jedoch schon im Beginn der Körnerbildung und dann auf den durch sie eingenommenen Abschnitt beschränkt, eine Veränderung im Hämoglobin des Blutkörperchens auf, welche sich tinktoriell durch eine metachromatische Verfärbung kundgibt. Bei der üblichen Methylenblaufärbung erscheinen solche Blutkörperchen oder Segmente derselben graublau, während alle anderen blaugrün sind, mit Romanowskys Methode blaurot anstatt rosa. Gleichzeitig schwellen sie an, so daß sie im Vergleich zu ihren Nachbarn fast stets vergrößert sind. Nun beginnt im Zentrum das Hämoglobin zu schwinden. Man sieht demnach jetzt eine ungefärbte zentrale und eine metachromatisch gefärbte, gekörnte peripherische Zone. In diesem Stadium verrät die Substanz des Blutkörperchens eine abnorme Weichheit. Stellt man nämlich die Blutpräparate so her, daß man zwei dachziegelförmig übereinander gelegte Deckgläschen nach entgegengesetzten Richtungen voneinander zieht, so gewahrt man nach den üblichen Fixierungs- und Färbungsmethoden, daß, während die übrigen

Blutkörperchen im allgemeinen normale Konturen zeigen, die gekörnten metachromatischen, namentlich die mit farbloser zentraler Zone, in die Länge gezogen, wellig begrenzt, dreieckig, kurz, unregelmäßig gestaltet erscheinen. Durch weiteren Schwund des Hämoglobins wird das gekörnte peripherische Band immer schmaler. Indem dieses Band infolge der Weichheit seines Protoplasmas einreißt, zerfällt es in einzelne Teilstücke und hört das Blutkörperchen auf, als Individualität zu bestehen. Derlei metachromatische, mit Körnern dicht besetzte Trümmer habe ich in einem Falle hartnäckiger, durch Halbmonde bildende Parasiten bedingter tropischer Malaria bei einem Javanen besonders schön und häufig beobachten können.

Es sei mir hier gestattet, noch einige Worte über die Bedeutung der metachromatischen Verfärbung am Blutkörperchen zuzufügen. Es ist soeben in unseren Erörterungen auf dieselbe als eines der Zeichen eines degenerativen Zustandes hingewiesen worden. Doch wäre es Unrecht, hierauf allein sein Urteil gründen zu wollen. Nur in Verbindung mit anderen Symptomen der Degeneration, wie Körnungen, zentralem Hämoglobinschwund, Konsistenzänderungen kommt ihm diese Bedeutung zu. Haben wir doch gesehen, daß auch junge Blutkörperchen in der Kernperiode, sowie in der auf die Ausstoßung des Kernes unmittelbar folgenden Entwicklungsstufe ganz dieselbe metachromatische Verfärbung zeigen. Es ist dies wiederum ein Beispiel dafür, daß verschiedene Dinge eine gleiche Farbenreaktion besitzen.

Zu wiederholten Malen ist bereits darauf hingewiesen worden, daß die basophilen Körnerbildungen gerade im Blute Malariakranker besonders häufig gefunden werden. Es liegt daher die Frage nahe, ob dem Malariaprozeß als solchem nicht etwas Spezifisches zu Grunde liegt, worin diese Tatsache ihre Erklärung finden könnte.

Ein mit Rücksicht darauf genau beobachteter Fall von Malaria bot in dieser Hinsicht interessante Verhältnisse und warf viel Licht auf die Beziehungen, welche zwischen dem Auftreten basophiler Körnerbildungen und dem Malariaprozeß bestehen können.

Es handelte sich um ein Rezidiv bei einem durch kleine sphärenbildende Tropenparasiten bedingten Fieber. Die erste Blutuntersuchung wurde einige Stunden nach Beginn des Fieberparoxysmus vorgenommen. Temp. 40° C. Es fanden sich zahlreiche, kleine, ringförmige und mittelgroße, meist mit Fortsatz versehene Parasiten. Außerdem fiel die große Zahl von Blutkörperchen mit basophilen Körnungen auf. Ferner zeigte sich nun eine unleugbare Beziehung dieser Blutkörperchen zu Malaria-Parasiten. Denn nur solche Blutkörperchen enthielten die Körnungen, die auch gleichzeitig einen Parasiten beherbergten. Blutkörperchen mit basophilen Körnungen ohne gleichzeitige Anwesenheit von Parasiten waren in diesem Stadium nicht vorhanden. Diese letzteren nun waren vielfach gut erhalten, häufig aber zeigten sie alle Merkmale des Zerfalles. So fand man entweder ein gut erhaltenes Chromatinkorn mit einem kleinen schwärzlich gefärbten Reste des Parasitenleibes, oder auch das Chromatinkorn zeigte sich abgestorben, indem es anstatt rotviolett schwärzlich-braun erschien. In vielen Fällen waren nur Ueberbleibsel des Parasitenleibes vorhanden, ein andermal nur ein oder zwei dunkel gefärbte Chromatinkörner. Letztere waren nicht selten auch randständig. Die basophilen Punktierungen erfüllten die Blutkörperchen ganz oder nur teilweise und bildeten so den Uebergang zu mehr solitär auftretenden Punktierungen. Die affizierten Blutkörperchen selbst waren

metachromatisch und deutlich vergrößert. Wenn diese Punktierungen nicht in jeder Hinsicht den uns beschäftigenden ähnlich gewesen wären, und wenn nicht aus der ganzen Reihe oben angeführter Gründe ihre Auffassung als Latenzformen der Malaria zurückgewiesen werden müßte, so hätte man hier an etwas Derartiges denken können. Sah es doch vielfach aus, als ob der Parasitenkörper sich größtenteils aufgelöst und eine Ausstreuung sporenähnlicher Gebilde stattgefunden hätte. Aber der Umstand, daß zahlreiche Parasiten in ihren Konturen sowohl als färberisch völlig intakt erschienen, obwohl sie von zahlreichen basophilen Körnungen umgeben waren, sprach schon von vornherein gegen die Annahme einer Auflösung der Parasitensubstanz in sporenähnliche Gebilde. Diese letzteren waren daher auch aus diesem Grunde etwas dem Parasiten Fremdes. Dagegen konnte nicht in Abrede gestellt werden, daß zwischen ihrem Auftreten und der Anwesenheit eines Parasiten ein ursächliches Verhältnis besteht. Denn ohne gleichzeitige Beherbergung eines Parasiten begegnete man, wie gesagt, in diesem Stadium der Krankheit keinem Blutkörperchen, das die basophilen Granulationen enthalten hätte. Sie müssen hier also, entgegen der Behauptung Plehns, von der Lebenstätigkeit der Parasiten abgeleitet werden. Auf der anderen Seite aber steht ebenfalls fest, daß dieses Verhältnis zwischen Parasit und Blutkörperchen in unserem zu Grunde gelegten Falle sowohl als auch überall anders, nicht die Regel, sondern die Ausnahme bildet. Es ist also kein notwendiges Verhältnis. Meist ist im gefärbten Präparat, welches Tropenparasiten enthält, an den infizierten Blutkörperchen nichts Auffallendes zu bemerken. Mit der Größenzunahme des Parasiten schwindet der entsprechende Teil des Hämoglobins, während der freigebliebene Teil der Blutscheibe sich in nichts von ihren Nachbarn unterscheidet. Was ist nun die Ursache, daß einzelne Blutkörperchen sich gegenüber der Anwesenheit eines Parasiten manchmal anders verhalten, daß sie anschwellen, sich metachromatisch färben und basophile Granulationen erkennen lassen? Liegt diese Ursache in besonderen Eigenschaften einzelner Parasiten, oder ist es eine abweichende Reaktion mancher Blutkörperchen gegenüber dem Malariaparasiten? In dieser Hinsicht kann man nur Vermutungen aussprechen und Wahrscheinlichkeiten gegeneinander abwägen. Die Parasiten, welche in unserem Falle den granulierten Zustand der sie beherbergenden Blutkörperchen bedingten, unterschieden sich von den anderen Parasiten durch die Reichlichkeit ihres Protoplasmas und in den meisten Fällen durch ihr kurzstündiges Dasein. Sie befanden sich überwiegend im Zustande des Zerfalles in relativ früher Entwicklungsperiode. Vielleicht erklärt sich so der Umstand, daß nur zu Beginn des Fiebers gekörnte Blutkörperchen mit Parasiten in erheblicher Zahl gefunden wurden und später nicht. Denn wenn diese durch gewisse Eigentümlichkeit charakterisierten Parasitenindividuen aufhören zu existieren, so fällt auch ihre Wirkung fort. Demnach müßte man sich vorstellen, daß gewisse Parasiten, wenn sie oft auch früh absterben und sich in einem Blutkörperchen nicht weiter entwickeln, dieses doch schon früh krank machen, und daß der granulierten Zustand der Ausdruck dieser Erkrankung sei, die schließlich zur Vernichtung des Blutkörperchens führt.

Man könnte aber auch denken, daß dem Parasiten als solchen nur die Rolle einer auslösenden Ursache zukomme, und daß einzelne Blutkörperchen infolge einer inhärenten, individuellen Abweichung, die zugleich den Wert einer Inferiorität besitzt, auf krankmachende Reize mit

dem Bilde des granulierten Zustandes reagieren. So würde es sich ebenfalls erklären, daß solche Blutkörperchen mehr zu Anfang eines Malariaparoxysmus im Blute vorhanden sind. Da sie nämlich wenig widerstandsfähig sind, werden sie auch am ersten angegriffen und verschwinden darum auch größtenteils früh aus der Zirkulation. Eine gewisse Bestätigung findet diese Auffassung auch durch die Betrachtung anderer akut fieberhafter Krankheiten, bei denen ich zwecks Feststellung der Diagnose Blutuntersuchungen vorgenommen habe. So traten während eines Aufenthaltes an der Nordküste Javas zahlreiche remittierend-intermittierende Fieber unter der Schiffsbesatzung auf, die auf Chinin nicht reagierten, 2—5—7 Tage dauerten und an das Bild der gastrisch-nervösen Form der Influenza erinnerten. Im Blute keine Spur von Malariaparasiten. Wohl aber, und beinahe ausschließlich, zu Beginn der Erkrankung zahlreiche Blutkörperchen mit basophilen Körnungen in allen Graden der Entwicklung. Daß sie später beinahe gänzlich aus der Zirkulation schwanden, erkläre ich mir durch ihre frühzeitige Erkrankung und demgemäß frühzeitige Elimination.

Wie dem aber auch sein mag, soviel steht jedenfalls fest, daß wir in dem Auftreten der basophilen Körnungen die Krankheit eines Blutkörperchens oder gewisser Blutkörperchens zu sehen haben, deren Einleitung sie bilden, und die nach einer Reihe weiterer daran sich anschließender Veränderungen zum Untergange des betreffenden Blutkörperchens führen. Die Ursachen, die dazu leiten, sind offenbar mannigfacher Natur. Schon unter normalen Verhältnissen bei Gesunden gibt es Momente, die, wenn auch in beschränktem Maße, dazu führen. Unter pathologischen Verhältnissen der verschiedensten Art werden Bedingungen geschaffen, die diese Wirkung verstärken. In der Malaria sind auch die Parasiten oder gewisse Parasiten dazu im stande, wie sich aus dem Studium geeigneter Fälle mit aller Deutlichkeit ergibt. Letzterer Umstand bietet uns die Möglichkeit, das Bild, welches die Blutkörperchen mit multiplen Körnungen unter Umständen im Malariablute darbieten können, und wodurch sie von den bei anderen Prozessen vorkommenden sich manchmal unterscheiden, zu vervollständigen. Es ist oben bereits auf die häufige Anwesenheit des Fleckchens, als Rest eines Parasiten, sowie auf geringe Pigmentanhäufungen hingewiesen worden. Es kommt noch das im abgestorbenen Zustande sich schwärzlich färbende Chromatinkorn hinzu, das entweder einzeln oder zu zweien oder bei mehrfacher Infektion zu dreien und mehr mitten zwischen den basophilen Körnungen anzutreffen ist. Unter diesen fallen sie, abgesehen von ihrer Farbe, auch durch ihre Größe auf. Wenn ein solches Chromatinkorn noch einen feinen bogenförmigen Rest eines Parasiten oder eine Andeutung davon erkennen läßt, so kann das zu Verwechslungen Anlaß geben, wie sie Plehn vorgekommen sind, der darin die Andeutung von dem Uebergange eines Kornes in einen Malariaparasiten zu sehen geglaubt hat. Bei Anwendung der Romanowskyschen Methode kann man sich davon überzeugen, daß man es mit totem Material zu tun hat. Es sind Reste von Parasiten, die gewesen, nicht Anfänge von Parasiten, die entstehen. Dasselbe gilt von den hantelförmigen Figuren, die ebenfalls, wenn ein Teil der Hantel in der Tiefe des Blutkörperchens gelegen ist und nun undeutlich durchschimmert, bei Methylenblaufärbung die Täuschung erwecken könnte, als ob man einen Parasiten im Werden vor sich habe.

Daß aber die Malariaparasiten nicht immer den granulierten Zu-

stand einzelner Blutkörperchen bedingen, und daß es hierfür noch andere Ursachen geben müsse, das lehrt die überwiegende Mehrzahl der Fälle, wo basophile Körnungen in deutlicher Unabhängigkeit von Parasiten auftreten. Es müssen demnach auch beim Malariaprozeß gewisse Momente dyskrasischer Natur vorhanden sein, die in ähnlicher Weise wie bei anderen mit Erkrankung der Blutmasse einhergehenden Prozessen gewisse Blutkörperchen affizieren, die allen krankmachenden Ursachen gegenüber mit demselben einheitlichen Bilde reagieren.

b) Solitäre Körnungen.

Nach dem, was über die multiplen Körnungen gesagt ist, bleibt nur noch wenig von den solitären zu sagen. Die Mehrzahl derselben ist identisch und verdankt ihren Ursprung demselben Modus wie die Körnungen, die das Bild der multiplen zusammensetzen. Es sind Anfangszustände desselben. In dieser Weise sind sie häufig im Malaria-blute anzutreffen. Aber auch bei nicht malarischer Affektion fanden sie sich neben multiplen Körnungen. So in einer Reihe von remittierend-intermittierenden Fiebern von influenzaartigem Charakter, während einer Reise der Küste Javas entlang. Demnach sieht man auch bei den solitären Körnern häufig die Anordnung zu zweien. Auch hantelförmige Figuren kommen vor. Vielfach zeigen größere Körner eine zwerchsack-ähnliche Einschnürung, die vielleicht eine Vorstufe der Hantelform ist. Im allgemeinen sind die solitären Körner von ungleicher Größe, doch sehr häufig ein wenig voluminöser, wie die größeren unter den multiplen. Dies liegt wahrscheinlich daran, daß sie im Vergleich zu letzteren junge Bildungen sind, indem die lokalen Nekrosen zu Anfang ihrer Entstehung einen größeren Raum einzunehmen, später aber etwas zu schrumpfen scheinen. Hat man es nun mit Malaria zu tun, so wird man unter Umständen unter den solitären Körnern auch abgestorbene oder frische Chromatinkörner finden, ganz in derselben Weise, wie dies bei den multiplen Granulationen beschrieben worden ist.

Es ergibt sich also, daß die uns beschäftigenden Körnungen für den Malariaprozeß nicht die ihnen von Plehn beigelegte wichtige Bedeutung besitzen. Da sie auch anderen Krankheitsvorgängen zukommen und selbst bei Gesunden gefunden werden, so haben sie nicht einmal eine nennenswerte diagnostische Bedeutung, selbst wenn man sie als bloße Degenerationserscheinung von Blutkörperchen auffaßt. Nur wo sich die accidentellen, von der Lebenstätigkeit der Malariaparasiten herzuleitenden Einlagerungen vorfinden, spricht dies mit Sicherheit für Malaria. Solche aber kommen, wenn überhaupt, zu Anfang der Fieberperiode vor, also zu einer Zeit, wo durch die Anwesenheit von Parasiten selbst die Diagnose gesichert ist. In der Zwischenzeit zwischen zwei Anfällen aber unterscheiden sich die basophilen Körnungen der Malaria in nichts von den bei Gesunden und anderen Krankheiten vorkommenden. Deshalb sind sie für die Feststellung der latenten Malaria ohne Bedeutung.

Nachdruck verboten.

Notes de parasitologie.

[Laboratoire d'hygiène et de parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 4 figures.

J'ai réuni ici quelques observations faites sur des parasites végétaux et animaux, observations qui, tout en contenant quelques faits d'un certain intérêt pour les études de parasitologie, ne pourraient pas, prises séparément, donner des travaux complets.

a) Parasites végétaux.

1. Observations sur les cultures et la morphologie de *Micrococcus melitensis*.

La culture dont je me suis servi provenait du laboratoire du Dr. Král à Prague.

Par inoculation sous-cutanée, elle n'était pas pathogène, ni pour les lapins, ni pour les cobayes, ni pour les souris grises. Sur les différents milieux de culture, elle présentait les caractères suivants:

1) Agar par piqûre à 37°: Après 24 heures, petit pointillé blanchâtre le long de la ligne de piqûre; point de développement en surface. Après 48 heures, petite plaque blanchâtre, à bords surélevés, et en profondeur, mince ligne de la même couleur. Après 5 jours, la plaque de surface est grisâtre, mate, à bords surélevés, à centre ombiliqué et après 13 jours elle a une coloration café au lait clair.

2) Gélatine par piqûre à 20°: Après 24 heures, légère ligne grisâtre le long de la piqûre, sans développement en surface. Ce n'est qu'après 8 jours qu'à la surface se forme une petite plaque blanchâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée.

3) Pomme de terre cuite à 37°: Après 48 heures la surface de la pomme de terre devient plus luisante, mais ce n'est qu'après 13 jours seulement qu'on remarque une mince couche blanche sur laquelle se détachent quelques points blancs de la dimension d'une petite tête d'épingle.

4) Carotte cuite à 37°: Mêmes caractères que sur pomme de terre.

5) Bouillon peptonisé à 37°: Après 48 heures, le bouillon est uniformément troublé, sans pellicule en surface. Au 5^e jour, se forme au fond de l'éprouvette un mince dépôt blanchâtre, poussiéreux, et le bouillon reste légèrement troublé.

6) Lait à 37°: Développement assez bon, sans coagulation.

A l'examen microscopique de toutes ces cultures, on trouve des bactéries immobiles, se colorant mal par le bleu de méthylène, mieux par la fuchsine phéniquée et ne se colorant pas par la méthode de Gram. Dans les cultures sur agar, on trouve au début des coques de 0,60 μ , isolés, en diplocoques ou en chaînettes de 5—6—10 éléments. À côté de ces formes, il y a des formes ovoïdes de 1—1,5 μ . Même après 13 jours on ne trouve point d'autres formes.

Dans les cultures en gélatine on trouve après 8 jours, des coques légèrement ovoïdes et disposés en chaînettes, parmi lesquels se trouvent

interposés des bâtonnets de 1,5 μ . Après 13 jours les formes en bâtonnet sont encore plus nombreuses.

Si on racle la surface des carottes et des pommes de terre on trouve après 7 jours, des coques en petits amas et des formes allongées en bâtonnets à extrémités arrondies parfois légèrement renflées, parfois rétrécies au milieu, de 1,5—2 μ . Les bâtonnets sont surtout nombreux après 13 jours.

Dans le bouillon peptonisé, il y a au début des coques isolés, à deux, en courtes chaînettes ou en amas, et ces formes se rencontrent encore après 13 jours.

Dans le lait, après 7 jours il y a des formes analogues à celles indiquées pour carotte et pomme de terre, et quelques formes légèrement renflées en poire.

Les cultures avec formes en bâtonnet, repiquées sur agar ne donnent que des coques ronds ou légèrement ovoïdes, disposés en amas ou en courtes chaînettes.

Il résulte de ces quelques recherches: 1) Que *M. melitensis* peut très bien se développer sur pomme de terre et carottes cuites. Seulement la culture n'est pas visible les premiers jours, et il faut racle la surface de ces milieux de culture et pratiquer l'examen microscopique pour pouvoir s'en rendre compte. 2) Que *M. melitensis* cultivé sur agar et dans le bouillon peptonisé présente les caractères morphologiques décrits par Bruce¹⁾, c. à d. ceux d'un microcoque rond ou légèrement ovoïde; mais en gélatine sur carotte, pomme de terre et dans le lait, à côté des formes typiques il peut donner des formes plus ou moins nombreuses en bâtonnet, formes qui repiquées sur agar ou dans le bouillon peptonisé reviennent à la forme de coques.

Ce fait très intéressant qui est indiqué par Lehmann et Neumann²⁾ qui considèrent *M. melitensis* comme formant un anneau de conjonction entre coccacées et bactériacées, semble être le résultat de la vie *M. melitensis* dans des milieux qui ne lui sont pas favorables, et plutôt que des formes de dégénérescence, ces bâtonnets pourraient représenter des formes de développement de ce microorganisme dans la vie saprophytique.

2. Sur la coloration de *M. gonorrhoeae* (Neisser) Flügge, par la méthode de von Wahl.

Von Wahl³⁾ a proposé une nouvelle méthode de coloration du gonocoque, fondée sur l'emploi d'une solution hydro-alcoolique d'auramine, thionine et de vert de méthyle. Cette solution suivant von Wahl, colorerait les globules du pus et les cellules épithéliales en vert clair, les gonocoques en rouge sombre presque noir, tandis que les autres bactéries seraient faiblement ou pas du tout colorées. J'ai appliqué cette méthode à la coloration du pus à gonocoques, à staphylocoques et à streptocoques. Tout en ne lui attribuant pas une valeur spécifique, cette méthode me semble avoir une certaine valeur pratique pour la recherche du gonocoque.

En effet, à l'intérieur des cellules colorées en vert clair, les gonocoques se détachent très bien à cause de leur coloration brun-foncé,

1) Army depart. (Rep. for the year 1890. Vol. XXXII. App. London 1892. No. 10. p. 385; Annal. de l'Inst. Pasteur. 1893. No. 4. p. 289.)

2) Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 2. Aufl. München 1899. p. 155.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. No. 3. p. 239.

qui permet de les reconnaître même là où la couche de pus est assez épaisse. Des expériences de contrôle faites avec du pus à staphylocoques et à streptocoques, m'ont démontré que même après une heure de contact avec la solution colorante de von Wahl, on n'obtient pas la coloration sombre qu'on obtient pour le gonocoque. Mais si ces microorganismes sont englobés par des cellules, leur coloration est identique à celle du gonocoque. Suivant moi donc, cette coloration n'est pas spécifique pour le gonocoque, mais c'est une bonne coloration qui peut prendre place à côté de celle que j'ai proposée, avec le bleu au thymol et la safranine¹⁾.

3. Sur le diagnostic de *Microsporium Audouini* Gruby.

Bien que dans le plus grand nombre de cas, le diagnostic de *M. Audouini* soit facile, vu l'aspect caractéristique des cheveux enveloppés par une véritable gaine de spores, il peut être utile dans certains cas, de mettre mieux en évidence et d'une façon rapide le parasite, surtout au point de vue de son mycélium. En 1902, j'ai eu l'occasion d'examiner une fillette du service de M. le Prof. Dind à l'Hôpital Cantonal de Lausanne, fillette qui était atteinte de la teigne de Gruby. C'est la première fois qu'il m'était donné d'observer cette affection à Lausanne et je crois qu'en Suisse elle a été signalée pour la première fois par Frédéric à Berne en 1901²⁾. Les cheveux pris sur cette fillette montraient déjà à l'œil nu, l'enveloppe grisâtre formée par le parasite, qui au microscope se présentait constitué exclusivement par de toutes petites spores. J'ai porté quelques-uns de ces cheveux dans du bouillon peptonisé, glyciné et glycosé, à 37° et après trois jours j'ai pu constater autour de ces cheveux examinés au microscope, le développement de filaments de 1,30 μ de large, peu segmentés, ramifiés ou disposés en fausses ramifications avec de nombreuses spores rondes de 1,20 μ disposées en amas. Ce simple procédé de l'ensemencement en bouillon peptonisé, glyciné et glycosé, me semble donc destiné à rendre quelques services pour le diagnostic de *M. Audouini* dans les cas où l'examen direct pourrait laisser des doutes.

4. Sur deux saccharomycètes trouvés en symbiose avec *Achorion* et *Trichophyton*.

L'étude qu'on a faite ces derniers temps de cas de blastomycose cutanée, m'engage à publier deux observations faites il y a quelques années sur deux saccharomycètes trouvés en symbiose l'un avec *Achorion Schönleini* sur l'homme, et l'autre avec un *Trichophyton* sur le veau.

1. obs. Enfant avec des lésions typiques de favus au cuir chevelu. À l'examen microscopique des croûtes je trouve à côté des éléments d'*A. Schönleini* des cellules ovoïdes de 3—4 μ , isolées ou en chaînettes, présentant les caractères très nets de cellules de levure. Des cultures sur agar maltosé à 37° donnent après 5 jours des colonies d'*A. Schönleini*, et à côté de celles-ci, de nombreuses petites colonies rondes blanches, luisantes et molles, formées par un saccharomycète à cellules rondes de 3—4 μ , immobiles, fournies d'un noyau et de 1—2 grains réfringents. J'ai repiqué ce saccharomycète sur différents milieux de culture et il s'est développé avec les caractères suivants.

1) Dind, Galli-Valerio, Eperon et Rossier, La blennorrhagie. Lausanne 1902.

2) Cité dans Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXI. 1902. p. 592.

En liquide de Raulin à 37°: Dépôt blanchâtre au fond de l'éprouvette formé par des cellules rondes ou ovoïdes de 3—4—5 μ , dont quelques-unes présentent des bourgeons à la périphérie.

Sur carotte cuite à 37°: Petites colonies sphériques de la dimension d'une tête d'épingle, blanchâtres, qui confluent ensuite entre elles en une couche épaisse, grisâtre. Au microscope on remarque les mêmes formes qu'en liquide de Raulin.

Sur agar maltosé incliné à 37°: Mêmes caractères macroscopiques que sur carotte cuite.

En gélatine à 18°: Développement en surface de colonies blanches à bords ondulés, qui ne liquéfient pas. Elles sont formées par des cellules rondes ou ovoïdes de 3—4 μ .

J'ai pratiqué avec ce saccharomycète des inoculations sous-cutanées chez le cobaye, sans déterminer des lésions ni locales ni générales.

2. obs. Veau présentant des lésions de teigne. À l'examen microscopique du raclage des plaques, tandis que je trouve les poils envahis par un *Trichophyton*¹⁾ entre les squames épidermoïdales, je trouve des cellules rondes ou ovoïdes de 2—3—4—6 μ d'un *Saccharomyces*. Des cultures faites sur agar glyciné et maltosé à 37°, donnent à côté des colonies de *Trichophyton*, de nombreuses colonies d'un saccharomycète qui dans les différents milieux de culture présente les caractères suivants:

En liquide de Raulin à 37°: Voile blanchâtre en surface et dépôt blanchâtre au fond. Au microscope on y trouve des cellules analogues à celles trouvées dans les squames épidermoïdales, disposées en amas ou en chaînettes.

Sur agar glyciné, maltosé, incliné, à 37°: Plaque blanche à contours festonnés qui finit par couvrir toute la surface de l'agar formant un enduit grisâtre ayant l'aspect de paraffine. Au microscope on trouve toujours les mêmes formes.

Sur carotte cuite à 37°: Colonies sphériques, isolées grisâtres, qui se fondent entr'elles en une couche grisâtre, formées par des cellules comme celles trouvées sur les autres milieux.

En bouillon peptonisé à 37°: Voile blanc grisâtre en surface, trouble du bouillon et dépôt poussiéreux au fond. Au microscope on y trouve les cellules rondes et ovoïdes ordinaires et en plus des cellules rondes de 10 μ , fournies de bourgeons sur la périphérie, et des cellules allongées, légèrement renflées en massue d'un côté.

Dans le lait, le développement est abondant, sans coagulation.

J'ai inoculé sous la peau avec des cultures de ce saccharomycète un cobaye et un rat blanc, mais sans résultat.

Quel rôle ont pu jouer ces deux saccharomycètes associés à l'*Achorion* et au *Trichophyton*? Quand j'ai eu l'occasion de les observer, je les ai considérés comme de simples associés ne jouant aucun rôle pathogène. Aujourd'hui qu'on connaît le rôle des saccharomycètes dans certaines affections cutanées, il est à se demander si, par le fait de leur association aux parasites des teignes, ils ne pourraient pas contribuer aussi à favoriser la lésion, peut-être en augmentant la virulence de l'*Achorion* et du *Trichophyton*, comme ils peuvent augmenter celle de quelques bactéries.

1) Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 1899. II. 3.

b) Parasites animaux.

1. Sur la présence d'oocystes chez *Anopheles Lutzii*, Theobald.

Lutz¹⁾ a donné une intéressante description de cet *Anopheles* qui vit dans les forêts du Brésil et dont les larves se développent dans l'eau collectionnée dans les feuilles de certaines plantes. Il serait l'agent de la malaria des forêts. Un de mes anciens élèves, M. le Dr. Rebsamen de Winterthour, m'a rapporté du Brésil un certain nombre d'*Anopheles* présentant les caractères d'*Anopheles Lutzii*. Il les avait capturés à 32 km au nord du port de Paranaguá (Etat du Paraná), à soman dessus du niveau de la mer, dans une forêt où la malaria dominait. Sur une vingtaine d'exemplaires que j'ai examinés et qui malheureusement étaient dans un mauvais état des conservation, un seul présentait dans les parois de l'estomac des kystes arrondis ayant les caractères des oocystes (fig. 1). A ma connaissance on n'a pas jusqu'à maintenant signalé ce fait chez cette espèce qui pourtant est considérée par Lutz comme agent important de la transmission de la malaria au Brésil.

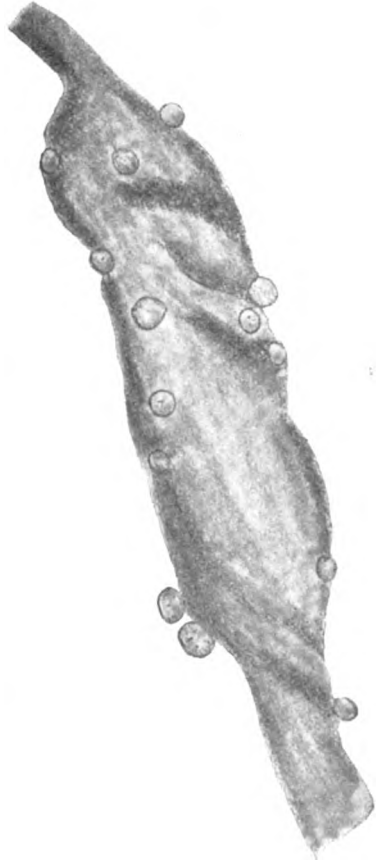


Fig. 1.

2. Sur un trypanosome de *Myoxus avellanarius*.

À l'examen d'une goutte de sang prise dans le cœur d'un *M. avellanarius* qui venait de succomber à mon laboratoire, j'ai trouvé deux flagellés qui se déplaçaient très vite entre les globules rouges et que pour cette raison je n'ai pu dessiner que d'une façon approximative.

Ils présentaient un corps allongé, avec une des extrémités arrondie, vers laquelle se trouvait placé un noyau arrondi, l'autre prolongée en un flagellum réuni au corps par une mince membrane peu plissée et mobile par des mouvements d'ondulation. Parfois ces deux parasites se ratatinaient et prenaient une forme arrondie, mais on distinguait à la périphérie une partie de la membrane et du flagellum. Leur dimension était d'environ 22 μ .

Je n'ai malheureusement pas trouvé d'autres de ces parasites dans le sang du *M. avellanarius* en question et l'essai, non réussi, de garder la goutte de sang avec les parasites, dans du citrate de potasse $\frac{1}{5}$ m'a empêché de pratiquer la coloration. Les caractères présentés par ces

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. No. 4. p. 282.

flagellés les rapprochent en tout cas des trypanosomes. Je signale le fait à tous ceux qui auront l'occasion d'examiner le sang de *M. avellanarius*.

3. *Bodo lacertae* Grassi chez *Lacerta vivipara*.

Ce flagellé, trouvé chez *Lacerta viridis* et chez *Lacerta muralis*, n'a pas encore été signalé, que je sache chez *L. vivipara*¹⁾. Au mois de juin 1902 j'ai trouvé ce parasite chez une *L. vivipara* capturée sur le Mont d'Or (1440 m) dans le Jura vandois (Suisse). Le cloaque de ce lézard était complètement rempli par des flagellés de 25 μ . Leur corps était ovoïde avec une extrémité plus amincie se terminant par un cil court, l'autre plus arrondie pourvue d'un flagellum très long et très mobile. Le parasite se déplaçait très vite sous le champ du microscope. Parfois il se présentait, dans ces mouvements, sous la forme d'une sphère granuleuse.

J'ai aussi observé ce parasite, dans le canton de Vaud, dans le cloaque de *L. muralis* et de *L. stirpium*.

4. Sur un *Cercomonas* trouvé dans un cancer de la joue chez l'homme.

Pendant l'été de 1902, j'ai eu l'occasion d'examiner un paysan de la Valteline (Italie), atteint d'un cancer de la joue, cancer qui communiquait avec la bouche où il avait eu son point de départ, et qui donnait beaucoup de matière puriforme.

À l'examen microscopique de ce matériel, j'ai été immédiatement frappé par la présence de corps mobiles, irrégulièrement arrondis ou en poires, à contour très net, contenu granuleux avec une tache sombre présentant l'aspect d'un noyau et pourvus d'un long flagellum. Il n'y avait pas trace d'autres filaments ni de membrane ondulante. À l'état de repos, ces corpuscules se présentaient arrondis, granuleux, de sorte qu'on pouvait les confondre au premier abord, avec des globules de pus. Mais brusquement ils sortaient leur flagellum et se déplaçaient vivement sous le champ du microscope. Ce flagellé, que j'ai observé pour la première fois le 21 juillet 1902, a persisté dans la lésion, et le 5 sept. époque à laquelle j'ai vu pour la dernière fois le patient, il y était encore extrêmement abondant. Dans du pus que j'ai gardé dans de l'eau glycérolisée, j'ai trouvé plus tard des formes rondes à double contour pourvues d'un noyau, analogues à des formes enkystées. Sur des coupes d'un petit morceau de la tumeur que j'ai pu enlever, j'ai noté en colorant par le carmin aluné et le bleu de méthylène, des corpuscules ronds ou ovoïdes de 2, 5—3 μ , fortement colorés en violet, localisés surtout au niveau de la partie ulcérée. Je ne pourrais pas affirmer que ces corpuscules correspondent au flagellé observé à l'état frais et ratatiné par l'action de l'alcool.

Le flagellé que je viens de décrire se rapproche par ses caractères, du genre *Cercomonas* et surtout de *C. gallinae*. Davaine que j'ai souvent observé dans des fausses membranes de certaines formes de diphtérie des pigeons et des poules. Il s'était très probablement installé accidentellement dans la lésion du carcinome et i s'y était multiplié.

1) Doflein, Die Protozoen. Jena 1902.

5. Nouvelles observations sur *Trichomonas caviae* ; Davaine.

Dans un travail précédent¹⁾ j'ai décrit une épizootie des cobayes due à *T. caviae*. J'ai indiqué alors que ce parasite donnait des corps ronds ou ovoïdes à double contour, que je considérais comme des formes enkystées. Depuis lors j'ai eu l'occasion d'observer plusieurs cas de cette affection chez des cobayes et j'ai gardé dans une chambre humide à une température de 18—20° C, du contenu du gros intestin de ces animaux, très riche en parasites. À l'examen de ce matériel après un mois, j'ai remarqué à côté des kystes déjà décrits d'autres kystes ronds, à double contour, de 7—15 μ remplis de corpuscules ronds ou réniformes réfringents. Des corpuscules analogues se trouvaient libres dans les matières fécales.

Si on portait un peu de ce matériel sur la platine chauffante sous le microscope, tous ces corpuscules libres prenaient un aspect de petits *Trichomonas* et se déplaçaient très vite sous le champ du microscope. Un jeune cobaye à qui j'ai donné à manger de ces matières délayées dans un peu d'eau, a succombé avec de nombreux *T. caviae* dans le gros intestin. Cette observation me semble parler en faveur de la formation chez *T. caviae*, non seulement de formes enkystées durables, mais de kystes qui forment à leur intérieur des spores qui mises en liberté, donnent des petits *Trichomonas* qui acquièrent leur développement complet dans l'intestin d'un cobaye. Perroncito²⁾ aussi a remarqué l'aspect différent présenté par *T. caviae*, mais il a considéré les différentes formes comme formant quatre espèces. Je ne partage pas son avis. Pour moi il s'agit d'aspect différents d'une même espèce. Suivant la position que les *Trichomonas* prennent, suivant leur degré de développement, ils peuvent produire une impression différente. Je n'accepte pas non plus la dénomination de *Cercomonas* adoptée par Perroncito car ces parasites sont pourvus d'une membrane ondulante et doivent donc entrer dans le genre *Trichomonas*.

5. Un cas de *Bothriocephalus latus* Bréms. chez le chien à Lausanne.

Dans un précédent travail³⁾ j'ai signalé la présence de *B. latus* chez le chat à Lausanne. J'ai eu l'occasion de faire une observation analogue sur le chien, et comme jusqu'à maintenant la présence de ce parasite n'a pas encore été signalée chez cet animal en Suisse il est utile d'en dire quelques mots⁴⁾. Un chien terrier qui vit à Lausanne depuis plusieurs années, a éliminé au mois d'octobre 1902 deux morceaux de bothriocéphale, longs, l'un de 33 cm et l'autre de 9 cm, et dépourvus de tête. Le 21 février 1902, à la suite de l'administration de semences de courge, il a éliminé un bothriocéphale long de 18 cm pourvu de tête et un autre de la même longueur, se terminant aussi par un anneau arrondi, mais dépourvu de tête.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. No. 9. p. 306.

2) I parasiti. II. Ed. Milano 1902.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 285. Ce travail contient beaucoup de fautes d'impression car je n'ai pas pu voir les épreuves.

4) F. Zschokke (Fauna helvetica. Parasitische Würmer. Berne 1902) signale un travail de E. Zschokke (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XXVI. 1885. p. 117) dans lequel on parlerait d'un cas de *B. latus* chez le chien. J'ai consulté ce travail et n'ai trouvé que l'indication d'un cas de *B. lotus* (sans description) chez le chat.

Ce bothriocéphale présentait les caractères suivants: Tête impossible à bien décrire, étant déchirée en lambeaux. Elle semble avoir une longueur d'environ $1/2$ mm et est riche en corpuscules calcaires. Le cou est très court. Les anneaux plus larges que longs à angles postérieurs non proéminents, deviennent de plus en plus larges vers l'extrémité postérieure. Leur largeur est de 1-2-3-4-5-6 mm.

Les anneaux sont blancs avec les bords latéraux grisâtres, et présentent à leur centre une tache ronde, sombre et très nette. Au microscope on y observe une grande quantité de corpuscules calcaires, à couches concentriques. Il sont surtout accumulés sur les parties latérales des anneaux. L'ovaire, placé sur la ligne médiane, est situé plutôt vers le bord postérieur des anneaux. Il présente peu de branches latérales remplies d'œufs. Utérus en forme de lacets. Vers le bord antérieur de l'anneau on note l'ouverture ronde du pénis, l'ouverture arrondie du vagin entourée par un espace circulaire plissé. Plus en arrière on observe l'ouverture ronde du thochostome. Vésicules seminales dans le champs latéraux.

Oeufs ovoïdes, jaunâtres, avec un des pôles un peu plus pointu, opercule peu visible, contenu granuleux, de la dimension de $60 \times 45 \mu$.

À quelle espèce rapporter ce bothriocéphale? Dans sa monographie, Ariola¹⁾ cite pour le chien: *B. latus*, *B. serratus*, *B. fuscus* et *B. cordatus*. Les caractères que j'ai indiqués me semblent parler pour *B. latus*. En effet *B. serratus* a les angles postérieurs des anneaux très proéminents et présente de rares corpuscules calcaires. *B. fuscus*, entr'autres, manque de corpuscules calcaires, *B. cordatus* n'entre pas en ligne de compte. Il est intéressant de noter la petitesse de la taille de ce *B. latus* qui semble s'être adapté à la petite taille de son hôte.

6. Sur une lésion du foie de *Mus decumanus* due aux œufs de *Trichosoma hepaticum* Bancr.

L'existence de lésions du foie chez *M. decumanus* dues aux œufs de trichotrachélidés a été signalée par différents observateurs²⁾. Dans un catalogue de ma collection³⁾ j'ai indiqué moi même la présence de ces lésions chez deux surmulots.

Vu l'importance aujourd'hui acquise par l'étude des maladies parasitaires de rats et des souris, surtout au point de vue du diagnostic différentiel des lésions dues à la peste bubonique, il me semble utile d'attirer l'attention sur cette intéressante lésion. Dans le deux cas que j'ai eu l'occasion d'examiner, le foie présentait des dimensions normales mais sur sa coloration rouge foncé, se détachaient de toutes petites taches blanc-jaunâtres, légèrement proéminentes, les unes en forme de tubercules de la dimension d'une tête d'épingle, les autres plutôt allongées, de $1/2$ mm de longueur. Ces taches et ces tubercules, dans plusieurs points du foie, confluaient entre eux donnant des taches plus grandes, irrégulières, à contours déchiquetés. Ces lésions étaient surtout accentuées vers les bords du foie. Le raclage de ces taches et de ces tubercules examiné au microscope contenait, au milieu de détritits cellulaire, une quantité innombrable d'œufs d'helminthes de $50 \times 22 \mu$. Ils étaient ovoïdes, avec les deux pôles prolongés par deux bouchons trans-

1) Archives de parasitologie. T. III. 1900. No. 3. p. 369.

2) Railliet, Bull. de la soc. zool. de France. T. XIV. 1889. p. 62.

3) Bull. soc. vaud. d. Sc. Sér. 4. Vol. XXXVII. No. 14^o.

parents, de sorte qu'ils présentaient l'aspect caractéristique en citron des œufs des trichotrachélidés. Leur coque était épaisse, striée, le contenu granuleux et la coloration jaunâtre. Sur les coupes du foie on remarquait les altérations suivantes (fig. 2): Au niveau des taches jaunâtres, le parenchyme hépatique était complètement détruit. Les cellules hépatiques étaient remplacées par une néoformation de tissu conjonctif dans les mailles duquel il y avait des amas d'œuf avec les caractères indiqués.

Parfois ces œufs formaient, au milieu du parenchyme du foie, de véritables îlots entourés de tissu conjonctif, parfois il y avait encore autour d'eux des cellules hépatiques. En certains points, on remarquait autour des œufs des traces de cellules épithéliales des canalicules biliaires ;

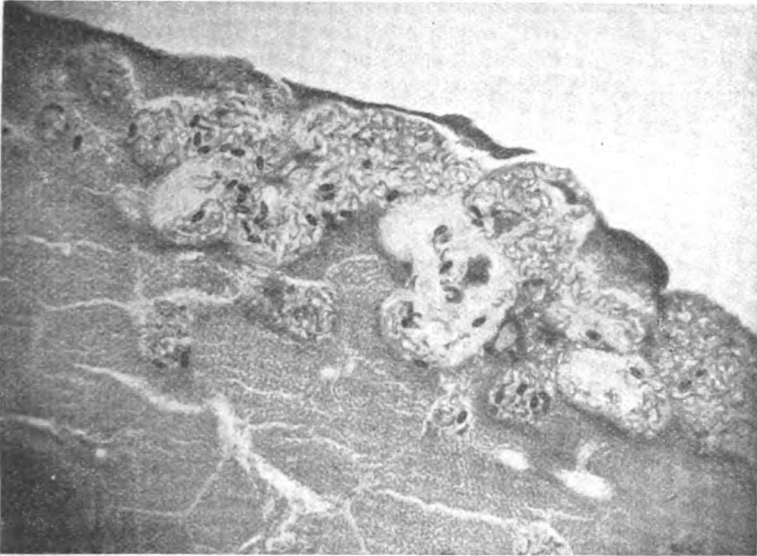


Fig. 2.

en d'autres points, il y avait encore la trace de canaux biliaires remplis d'œufs. Il s'agissait donc d'une véritable cirrhose hépatique due à l'irritation des parois des canaux biliaires, comme on en voit sous l'influence des distomes et de leurs œufs¹⁾, déterminée très probablement par *T. hepaticum*. La recherche du ver a été négative. Il se pourrait que les de *Trichosoma* remontent le long des petits canalicules biliaires, y pondent les œufs et soient ensuite éliminées, ou bien que leur corps se détruise sur place.

Quoi qu'il en soit, ces œufs étaient bien vivants, car placés par moi dans l'eau ils se sont embryonnés et chose intéressante, quelques-uns que j'avais placés dans une solution de formaline à 2 ‰ portés, après 2 mois, dans l'eau, se sont aussi embryonnés.

1) Galli-Valerio, B. Le neoformazioni nodulari nell'organismo dell'uomo e degli animali. Parma 1897.

7. Action du bisulfate de soude 2 ‰ sur les embryons d'*Ankylostoma duodenale* Dubini.

Dans un précédent travail¹⁾, ayant constaté que l'eau avec le 2 ‰ de bisulfate de soude peut déterminer la mort des embryons de *Strongylus rufescens* en 4—13 minutes, je me suis demandé si un résultat analogue ne pourrait pas s'obtenir sur les embryons de *A. duodenale*. J'ai pu faire quelques recherches à cet égard, et constater que des embryons de ce parasite, placés dans une solution de bisulfate de soude 2 ‰ à des températures de + 10° + 35° cessent en grande partie tout mouvement après 10 à 30 minutes. Quelques-uns pourtant résistent à ce traitement. La méthode de Parkes et Rideal, pourrait donc rendre quelques services aussi dans la prophylaxie de l'ankylostomose.



Fig. 3.

8. Sur des larves de diptères trouvées chez l'homme.

Il s'agit de larves que j'ai signalées sans les décrire, dans un catalogue de ma collection de parasites²⁾.

J'ai reçu de Sofia (Bulgarie) deux larves ayant été trouvées dans l'urine d'un homme. Je n'ai pas pu avoir de renseignements sur ce cas. Elles étaient longues de 1—1½ mm plus minces vers l'extrémité antérieure, légèrement courbées, d'une coloration jaune clair. Les an-



Fig. 4.

neaux, au nombre de 12, étaient limités postérieurement par un bourrelet avec plusieurs rangées irrégulières de petites pointes brunes. Vers la

1) Bull. soc. vaud. sc. nat. Sér. 4. Vol. XXXVIII. No. 143.

2) Bull. soc. vaud. sc. nat. Sér. 4. Vol. XXXVII. No. 140.

partie antérieure existaient deux crochets bruns recourbés en arrière (fig. 3). M. le prof. Bezzi, qui a vu une photographie d'une de ces larves, les considère comme appartenants très probablement à *Tichomyza fusca* Macq.

Une autre larve a été trouvée par M. le Dr. Gonin assistant à la clinique ophtalmologique de Lausanne, sous la paupière supérieure d'une personne qui présentait une forte lacrymation et hyperémie de la conjonctive palpébrale. Cette larve qui rampait vivement sur la conjonctive de la paupière, présentait une longueur de $\frac{3}{4}$ de mm, une forme ovoïde, une coloration jaune pâle; 12 anneaux séparés entr'eux par une double couronne de petites pointes triangulaires dirigées en arrière. Extrémité antérieure pourvue de 2 forts crochets bruns, courbés en corne de chamois (fig. 4).

M. Bezzi qui a bien voulu examiner aussi une photographie de cette larve, la considère comme étant celle d'un diptère ciclorraphe schizophore eumidé appartenant aux muscaria releizometopa de Brauer. Quant au genre il ne croit pas possible de pouvoir l'établir. Il pourrait s'agir d'une *Calliphora*, *Lucilia* ou autre.

Lausanne, 10 juillet 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben¹⁾.

[Laboratorium der allgemeinen Pathologie Ferrara.]

Von Prof. **Eugenio Centanni**.

Man kennt die Möglichkeit, präzipitierende Antikörper durch Behandlung mit einer Reihe von löslichen Produkten verschiedener Herkunft zu gewinnen, vor allem mit Flüssigkeiten von Bakterienkulturen (Kraus), und dann mit heterogenen Serumarten (Tschistowitsch), mit Milch (Bordet), mit Pepton (Myers), mit Schlangengift (Lamb), und mit Pflanzentoxinen und -albuminen zusammen (Jacoby, Schütze, Kowarski).

Da alle diese Flüssigkeiten als direkte oder indirekte Abkömmlinge der Zellmaterialien betrachtet werden können, war es interessant, zu prüfen, ob die aus saftfreien Zellen direkt bereiteten Auszüge fähig wären, präzipitierende Antikörper hervorzurufen und ob sich diese Eigenschaft in spezifischer Form äußerte, so daß man sie benutzen könnte, um die Natur und die Herkunft der Produkte der Zellzerstörung zu ergründen.

In dieser Hinsicht waren die negativen Resultate von Nolf bekannt, welcher keine Entstehung irgendwelcher präzipitierender Reaktion gesehen hat, wenn er die von ihrem Serum vollkommen ausgewaschenen Hühnerblutkörperchen injizierte. Trotzdem konnte Schütze ein Präzipitin für das menschliche Muskelalbumin erzielen, welches für das Blut und den menschlichen eiweißhaltigen Harn wirkungslos blieb; desgleichen wies Hamburger verschiedene Präzipitine für das Kalbseasein und das Albumin nach.

1) Mitteilung der Accad. di Scienze mediche e naturali di Ferrara, 11. April 1903.

Ich habe über diese Frage eine weitgehende Untersuchungsreihe unternommen und die Resultate der zwei ersten Mitteilungen haben nachgewiesen: 1) Wenn bei den normalen Tieren das Serum und das Extrakt, sowohl der eigenen wie der anderen Individuen oder Rassen angehörigen Gewebe, gemischt werden, so erhält man regelmäßig keine Präzipitation; 2) wenn bei Tieren Impfungen mit Emulsion von normalen Organen ausgeführt werden, kommen Zytopräzipitine in proportionellem Grad zur Behandlungsintensität in einigen Fällen vor, wie z. B. für die Leukocyten, für die Niere und für das Blut homologer Herkunft, bleiben sie dagegen in anderen Fällen aus, wie z. B. für das neurotoxische und kardiotoxische Serum, wenn es auch mit heterologen Geweben bereitet wird; 3) wenn bei pathologischen Prozessen das Material von den Leichen und von einigen experimentellen Infektionen gewonnen wird, so tritt in einigen Fällen die positive Reaktion sehr deutlich zu Tage, während es in anderen nicht gelingt, sie hervorzubringen. Hinsichtlich der Spezifität der Reaktion bleibt die Frage noch offen.

In dieser Arbeit werden diejenigen Autozytopräzipitine einer speziellen Untersuchung unterworfen, welche reagieren, wenn Blutserum und Gewebeauszug desselben Individuums gemischt werden; sie stellen sicher die interessanteste Form unter den Zytopräzipitinen dar, da sie fähig sind, uns die intimsten Vorgänge bei den Reaktionen zu offenbaren, welche zwischen dem einen und dem anderen Organ im Verlauf der Krankheiten auftreten, und weil sie uns hoffen lassen, Sitz und Natur des Krankheitsprozesses im Blute aufzuspüren.

An der Hand der Untersuchungen über die Präzipitine für die Säfte heterologer Organismen und für die Bakterienextrakte, auf welche am meisten die Aufmerksamkeit gelenkt worden ist und für welche man schon eine reiche Menge von Reaktionen und Merkmalen kennt, suchte ich festzustellen, inwieweit die Lehre anwendbar ist, und welche Aenderungen sie erfährt, wenn beide Elemente der Reaktion Bestandteile desselben Organismus sind, in welchem sie auftritt. Das wesentliche Resultat dieser Untersuchung ist die Aufdeckung eines noch nicht studierten Reaktionskörpers, der zwischen den heterologen Präzipitinen und dem Fibrinogen des normalen Blutes steht, und die Kontinuitätsbeziehungen zwischen der Reaktion auf physiologische Reize und jener auf pathologische Reize im Organismus vielfach aufklären kann.

Die Subjekte, welche das Material für die folgenden Hauptversuche geliefert haben, sind:

a) Lungenentzündungen im Menschen. Die Leichen eignen sich wenig für diese Untersuchungen, zumal bei nicht kalter Jahreszeit wegen der leicht auftretenden Diffusion von Produkten der Blutzellen und der Gewebe in das Serum, ein Umstand, der, wie wir sehen werden, eine im frischen Blute nachweisbare Reaktion aufzuheben vermag. Unter den untersuchten Leichen wurde sehr gutes Untersuchungsmaterial von einem an Tuberkulose verstorbenen jugendlichen Individuum mit diffuser Lungenaffektion und Anfangsbildung von Kavernen gewonnen; das Blut wurde aus dem Herzen 24 Stunden nach dem Tode genommen, als es noch nicht geronnen war. Von anderen Lungenentzündungen lieferte passendes Material eine bronchopneumonische Form bei einem alten Individuum; negativ die frischen rasch verlaufenden Formen.

b) Diphtherie beim Hunde. Langsam verlaufende Form. Am 1. Tage mit 0,10 ccm frischer Kultur behandelt, desgleichen am 7. Tage;

mit 0,15 ccm am 18. Tage. Es entwickelt sich Lähmung der hinteren Körperhälfte, welche vollkommen wird; die zu Beginn der Krankheit erhebliche Albuminurie hörte zuletzt auf. Es wurde in schlechtem Zustande am 64. Versuchstage entblutet. Am 14. und am 21. Tage der Behandlung wurden Prüfungsproben von Blut entnommen.

Für die akute Form werden einem Hund 0,5 ccm von Diphtherietoxin eingespritzt; er stirbt am 5. Tage. Eiweiß im Harn $\frac{2}{3}$ der Flüssigkeitshöhe.

c) Ammoniumchromat beim Hunde. Chronische Form. Am 1. Tage bekommt er eine Einspritzung von 0,01 g; am 6. 0,01 g; am 9. 0,02 g; am 13. 0,02 g; Eiweiß im Harn $\frac{1}{3}$ der Höhe der Röhre; am 20. 0,02 g; am 33. 0,03 g; am 54. 0,03 g; am 75. 0,04 g; am 88. 0,07 g; Eiweiß im Harn beinahe die Hälfte der Flüssigkeit. Stirbt am 96. Versuchstage; das Material wird sofort nach dem Tode entnommen. Blutproben während des Lebens am 16., 54., 65., 88., 95. Versuchstage entnommen.

Für die akute Form wurden einem kleinen Hunde 0,05 g unter die Haut injiziert. Stirbt am 6. Tage. Der bei der Nekroskopie aufgefangene Harn zeigt Eiweiß, die Hälfte der Flüssigkeitshöhe. Ein anderer mit 0,02 g behandelter Hund stirbt am 10. Tage mit wenigem Eiweiß im Harn.

d) Mischintoxikation von Canthariden-Chromat-Diphtherie beim Hunde. Im Zeitraum von 39 Tagen bekommt derselbe neun Candaridingaben, von welchen drei von Candaridin unter die Haut von 3, 6 und 9 mg, den Rest per os in Form von Pulver von 10 bis 30 cg und von Tinktur von 2 bis 3 g. Es entwickeln sich Schorfe auf der Haut, im Harn wenig Eiweiß. An den 40 folgenden Tagen bekommt er abwechselnd fünf Injektionen von Chromat von 1 bis 3 cg und zwei Injektionen von Diphtheriegift von 15 bis 20 cg. Eiweiß im Harn von $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{6}$ der Flüssigkeitshöhe. Stirbt mit schwerer Lähmung der hinteren Körperhälfte am 84. Tage der Behandlung. Das Material wird kurz nach dem Tode aufgefangen; Blutproben wurden am 1. und 19. Behandlungstage entnommen.

e) Vaccination mit Kaninchenniere. Homologe Kaninchenniere in 10fachem eigenen Gewicht von physiologischer Lösung emulsiert. Am 1. Tage Injektion unter die Haut von 0,75 g Niere pro Kilo; am 9. Tage 1,0 g; am 24. Tage 1,0 g intraperitoneal; am 36. 1,75 g intraperitoneal. Das Blut wird am 11. Tage nach der letzten Injektion bei gutem Befinden des Tieres aufgefangen.

In dieser Reihe erscheinen Tiere verschiedener Art (Mensch, Hund, Kaninchen); verschiedene histolytische Agentien (Tuberkulose, Diphtherie, Ammoniumchromat, Cantharidin, Nierenemulsion); rascher Verlauf von 5 Tagen bis zu jenem langsamen von mehreren Monaten; Blutprobe nahe dem Tode und in verschiedenen Zeitperioden während des Krankheitsverlaufs.

Die Sera, bei welchen das Präzipitin die größte Konzentration erreichte und die deutlichste Reaktion zum Vorschein brachte, sind die des tuberkulösen Menschen, der Hunde mit langsam verlaufender Chromatintoxikation und Mischintoxikation; weniger erheblich beim bronchopneumonischen Menschen und beim nephrotoxischen Serum des Kaninchens; für alle, mit Ausnahme des letzteren, bei den Blutproben nahe dem Tode. Auf diese werden wir uns beziehen, wenn Tiere und Blutproben nicht besonders angegeben werden.

I. Fällung durch Verdünnung.

Wenn man Verdünnungen von aktivem Serum mit 0,85% CINA-Lösung zu bereiten sucht, so fällt zunächst die Tatsache des Auftretens eines Niederschlages auf. Derselbe erscheint im konzentrierten Serum in Form eines gallertigen Blocks, welcher die ganze Flüssigkeit einnimmt, mit wenig Tendenz, zusammenzuschumpfen; in den folgenden Verdünnungen bilden sich Flöckchen, die in der Flüssigkeit herumswimmen, regelmäßig je ein Flocken bei jeder Verdünnung. Die Bildungszeit ist kurz, oft plötzlich ohne Zuhilfenahme der Ofenwärme. Wenn man um einige Stunden die Berührung insbesondere bei den ersten Verdünnungen verlängert, sieht man um den ersten dichten Niederschlagsflocken herum die Bildung eines zweiten, welcher den ersten umhüllt, wie ein dünnes Wölkchen; durch eine einzige begrenzte Verdünnung gelingt es aber nicht auf einmal, die präzipitierende Aktivität des Serums vollständig zu erschöpfen, wie dies im Gegensatze dazu mit dem Gewebeextrakt zu erzielen ist.

Anfangs kann das Serum eine doppelte Verdünnung aushalten, bei den folgenden Verdünnungen aber wird es empfindlich gegen Bruchteile seines eigenen Volumens, und jedesmal kommt ein neues Flöckchen von Niederschlag zum Vorschein, wenn das Volumen der Flüssigkeit verdoppelt wird. Bei einem gewissen Punkt hört die Fällung auf, auch dann aber kann man nicht sagen, daß jedes aktive Prinzip entfernt ist, da, wenn man Gewebeextrakt hinzusetzt, die Fällung wieder erscheint. So hörte das Serum von der Mischintoxikation bei der Prüfung in frischem Zustande bei einfacher Verdünnung zwischen 1:500 und 1:1000 auf zu fällen, mit dem Extrakt der eigenen Niere war der Niederschlag noch empfindlich bis zu 1:1 Million. Dies führt dazu, einen ersten Unterschied bei den in Rede stehenden Präzipitinen anzunehmen, nämlich eine in der physiologischen Lösung lösliche und eine unlösliche Form; das Gewebeextrakt vermag alle beide zu fällen.

Die soeben beschriebene Erscheinung kommt weder den heterologen Präzipitinen noch der Gerinnung zu: außer den chemischen Verschiedenheiten, die wir aufzählen werden, wissen wir, daß die Verdünnung des Blutes mit physiologischer Lösung die Bildung des Gerinnsels verzögert, anstatt sie zu begünstigen. Man muß annehmen, daß im Serum Körper existieren, welche fähig sind, das Präzipitin löslich zu erhalten: dies können dieselben Bestandteile des Serums sein, da man weiß (Rostoski, Eisenberg), daß bei den konzentrierten Eiweißlösungen die Fällung schwieriger ist, als bei den verdünnten. Sehr wahrscheinlich nehmen aber daran neue Produkte teil, entweder infolge einfacher Absorption der Gewebe, oder als Reaktionsfolge in Form von Präzipitolytin, einem der Antikörper, welche schon für heterologe Organismen untersucht wurden.

Eine andere Möglichkeit muß man in Betracht ziehen, nämlich daß im Serum Präzipitin und präzipitables Material im Gleichgewichtszustand existieren, so daß sie nicht reagieren können und daß sich die Affinität äußert, wenn die Konzentration vermindert wird. Es ist dies eine neulich von M. Ascoli nachgewiesene Tatsache; dieser hat, von der Beobachtung von Linossier und Limoine und v. Eisenberg ausgehend, daß die Fällung hauptsächlich durch einen Ueberschuß des Präzipitablen verhindert wird, um das gleichzeitige Vorhandensein der beiden Reagentien sichtbar zu machen, den geistreichen Ausweg ge-

funden, in einer Röhre nicht verdünntes Serum mit demselben verdünnten Serum zu schichten, so daß das konzentrierte Präzipitin des ersteren in Berührung mit der verdünnten präzipitablen Substanz des letzteren kommt; und tatsächlich beobachtete er an der Berührungsstelle die Bildung eines Niederschlagsschleiers.

In unserem Falle sprechen die Tatsachen eher dafür, daß im freien Zustand eine eigentümliche, in der physiologischen Lösung wenig lösliche Präzipitinform besteht; jedenfalls, auch wenn die eben erwähnte Hypothese angenommen wird, wäre diese Reaktion insofern eigentümlich, als die Verhinderung der Fällung nicht von einem Ueberschuß, sondern von einem Mangel an präzipitabilem Material herrühren würde, wie dies durch die präzipitierende Wirkung des Zusatzes von Gewebeextrakt bewiesen wird.

II. Fällung durch das Gewebeextrakt.

Das Gewebeextrakt, welches zu aktivem Serum zugesetzt wird, bedingt darin die rasche Entstehung eines Niederschlages; wenn es sich um normales oder wenig verdünntes [1:5] Serum handelt, gerinnt die ganze Masse zu einem gallertigen Block mit wenig Tendenz zusammenzuschrumpfen; wenn es sich um stärker verdünnte Lösungen handelt, bilden sich deutliche Flöckchen in der ganzen Flüssigkeit und bei noch stärkeren Verdünnungen kommt nur eine Verschleierung zum Vorschein.

Man kann es ausschließen, daß diese Fällung von einfacher Verdünnung herrührt, da sie bei den geringsten Proportionen des Extraktes auftritt, und auch dann, wenn vor der Reaktion die Serumverdünnungen im Vacuum konzentriert wurden. Wenn man ein Stückchen Gewebe hinzusetzt, sieht man dasselbe sich ebenfalls mit einem Gerinnsel umgeben; und dies läßt uns vermuten, was für eine Bedeutung diese Untersuchungen für die Aufklärung noch unbekannter Momente des inneren pathologischen Stoffwechsels haben mögen.

Uebrigens gibt es einige Kriterien, welche die Fällung durch Verdünnung von jener durch histologisches Material unterscheiden lassen. Zu diesen gehören: 1) daß nach Erschöpfung der Fällung durch Verdünnung der Zusatz von Gewebe gewöhnlich neuen Niederschlag hervorruft, während die Verdünnung nach der Erschöpfung durch das Gewebeextrakt keine Wirkung hat; es scheint also, daß die zwei Präzipitinformen, die in der physiologischen Lösung lösliche und die unlösliche, ein gemeinsames Reagens in gewissen Gewebsbestandteilen besitzen; 2) daß man durch Zusatz einer selbst unbedeutlichen Menge von Gewebsplasma erzielen kann, daß auf einmal das aktive Serum von jeder ferneren Fällung erschöpft wird, während man durch allmählichen Zusatz von physiologischer Lösung ganz genau eine fraktionierte Fällung erzielen kann; 3) daß der Niederschlag durch Verdünnung die Form einer einzigen Flocke annimmt, und nicht jene eines Wölkchens von Flöckchen, wie für das Gewebeextrakt in verdünnten Lösungen.

Es ist wichtig, die Frage der reciproken Mengen, mit welchen das Präzipitin und die präzipitabile Substanz reagieren, festzustellen, da dies ein Moment wesentlichen Unterschiedes zwischen Fällung durch Antikörper und Fällung durch Fermente (Fuld) bildet. Bei den ersteren (Serum- und Milchpräzipitinen) vermag eine gegebene Präzipitinmenge nur auf eine bestimmte Menge von Fällungsmaterial zu wirken, und es handelt sich dabei um eine bimolekuläre Zusammensetzung; bei den

letzteren (Fibrinferment, Chemosin) wirkt das Agens unabhängig von der Menge und es handelt sich dabei um eine katalytische Wirkung.

Ich habe das Serum des Hundes mit der Mischintoxikation auf 1:10 verdünnt, und dann, nachdem die dabei gebildete Flocke entfernt war, dasselbe auf die Hälfte konzentriert, um die Wirkung der einfachen Verdünnung auszuschalten. Ich habe es zu je 1 ccm in Röhrchen verteilt und ihm allmählich Nierenextrakt zugesetzt, indem ich mit dieser physiologischen Lösung in allen Röhrchen das Volumen wieder auf 2 ccm brachte. An der ersten Grenze, fast mit einem kritischen Uebergang, tritt eine voluminöse Fällung auf, nach deren Entfernung neue Extraktmengen nur eine dünne Menge von Niederschlag hervorriefen; der dritte Zusatz blieb entweder wirkungslos oder gab nur ein zweifelhaftes Resultat. Dieselben Proben mit gleichem Resultat wurden für das Serum des Tuberkulösen und das Extrakt seines eigenen Myokards wiederholt.

Dieses Ergebnis und die Tatsache der genau abstufbaren Fällung durch Verdünnung und der Umstand, daß das Serum mehrere Wochen hindurch die ihm eigene Wirksamkeit beibehält, wenn es mit den ersteren Flocken der spontanen Fällung in Berührung gelassen wird, lassen uns annehmen, daß den von uns besprochenen Produkten die Fähigkeit einer fraktionierten Fällung in einem gewissen Verhältnis zu der Menge der Reagentien zukommt, welche Fähigkeit aber nicht sehr ausgesprochen ist, und die Autozytopräzipitine befinden sich auch in dieser Hinsicht in einer intermediären Stellung zwischen den Heteropräzipitinen und dem Fibrinogen.

Eine andere zu ergründende Tatsache war die, ob ein Ueberschuß von einem der zwei Reagentien ein Hindernis für die Fällung hervorriefe, wie das für die gewöhnlichen Heteropräzipitine der Fall ist. Es ergab sich, daß der Serumüberschuß kein Hindernis bietet, und es zieht sich das Präzipitat immer gänzlich zu einer gallertigen Masse zusammen; bei einem Ueberschuß von Organextrakt tritt die Fällung immer auf, sie kommt aber in einigen Fällen vermindert zum Vorschein. So habe ich auch manchmal gesehen, daß ein schon gebildeter Niederschlag sich vermindert, wenn derselbe in einem Ueberschuß von Organextrakt suspendiert gelassen wird; es scheint eine Auflösung einzutreten, immer aber partiell.

Bezüglich der Unregelmäßigkeiten, sowohl in dieser, wie in anderer Hinsicht, muß man sich vergegenwärtigen, daß das von verschiedenen und langdauernden pathologischen Prozessen gewonnene Serum nur ein höchst kompliziertes Produkt sein kann, und das Reagieren in entgegengesetzter Weise ist nicht auf widersprechendes Verhalten desselben Produktes zurückzuführen, sondern darauf, daß Produkte verschiedener Natur in dem einen und in dem anderen Falle vorwiegen.

III. Ueber den nicht spezifischen Charakter des Autozytopräzipitins.

Die Spezifität der Zytopräzipitine kann nach drei Gesichtspunkten hin erforscht werden: Den verschiedenen normalen Organen gegenüber, gewissen pathologischen Veränderungen unterworfenen Organen gegenüber, verschiedenen Rassen gegenüber.

Die Organe besitzen gemeinsame Bestandteile bei derselben Rasse und bei verschiedenen Rassen, was sich deutlich aus den chemischen und anatomischen Analysen ergibt; es sei hinzugefügt, daß die Erkrankung, welche vorzugsweise ein Organ angreift, immer auch auf die anderen

ihre Wirkung früher oder später geltend macht. Daraus ergibt sich, daß sowohl das Organextrakt, wie die durch seine Absorption hervorgerufenen Produkte teilweise gemeinsame Zusammensetzung haben müssen. Der Nachweis von allgemeinen und spezifischen Autozytopräzipitinen verlangt Differenzierungsvorgänge, unter welchen der jetzt angewendete empfindlichste der der elektiven Fällung ist, der sich darauf gründet, daß man mit dem Serum die verschiedenen Prinzipie nacheinander zusammenbringt, welche mit ihm Zusammensetzungen eingehen können, so daß die Mischung für ein Reagens erschöpft wird, während das eben nicht wirksame für das folgende Reagens unversehrt bleibt.

Ich habe eine sehr große Zahl dieser Proben für das Serum des tuberkulösen Menschen und des mit Mischintoxikation behandelten Hundes ausgeführt, indem ich zunächst mit einem Extrakt von anderen Organen, als den vorwiegend von der Erkrankung betroffenen, in dem einen Falle die Lunge, in dem anderen die Niere, behandelte, und mit dem Nieren-, Leber-, Milz-, Pankreas-, Lungen-, Herzextrakt Versuche anstellte. Ich habe in jedem Falle gesehen, daß auf den ersten Zusatz im Serum ein reichlicher Niederschlag auftritt; ein fernerer Zusatz von Niere bezw. Lunge gab dann aber keinen weiteren Niederschlag mehr oder nur geringe Mengen und unregelmäßig.

Das Bemerkenswerteste ist, daß dieselbe Tatsache bei verschiedenen Rassen sich wiederholt; wurden Versuche an aktiven Seris mit Organextrakten vom Menschen, Hunde, Hammel, Kaninchen, Huhn angestellt, so sah man, daß das fremde Organ immer reichlichen Niederschlag hervorrief und regelmäßig die Fällung für das nachher zugesetzte eigene Organ erschöpfte.

Es ist also klar, daß hier der Organismus gegen einen allgemeinen Zellenbestandteil reagiert hat; und dieses Präzipitin unterscheidet sich dadurch wesentlich von den heterologen, gewöhnlich untersuchten Präzipitinen, für die wir die ausgezeichnete Spezifität in Bezug auf die Rassen genau kennen. Sie finden aber ihr engstes Analogon in einigen Gerinnungserscheinungen des normalen Organismus, wie jenen des Blutes und jenen der Milch. Für das Fibrinogen wissen wir in der Tat, daß es mit dem Protoplasmadetritus jeder Zelle reagieren kann (A. Schmidt), und man sieht, daß das Fibrinogen eines Säugetieres von pflanzlichen Produkten und von Produkten niederer Organismen, wie die Saccharomyzeten und die Bakterien, gefällt wird. Ebenso fällt das Chemosin einer Provenienz die Milch verschiedener Tiere, und dieselbe Milch kann von Fermenten von verschiedener Herkunft, von verschiedenen Tieren, von Pflanzen (Kinarasis) und von Bakterien gefällt werden. Das Proteinmolekül in seinem riesigen Bau besitzt Rezeptoren mit der Eigenschaft, den Einfluß von zusammengesetzten Körpern mannigfaltigster Natur zu empfinden.

IV. Ueber die Frage der Spezifität bei den Autozytopräzipitinen.

Die so ausgesprochene Spezifität der heterologen Präzipitine ließ wohl früh die lebhaftesten Hoffnungen entstehen, mittels der präzipitierenden Reaktion, wie die Albumine der verschiedenen Organismen, so auch die Varietät charakterisieren zu können, aus welcher derselbe Organismus besteht. Die bemerkenswertesten Untersuchungen nach dieser Richtung, die mit den Bestandteilen der nativen Proteine, Enoglobuline, Pseudoglobuline und Albumine ausgeführt wurden, die durch

fraktionierte Fällung von einander getrennt und einzeln bei der Behandlung der Tiere angewendet waren, sind nicht günstig für den Begriff der Spezifität ausgefallen.

Die vielen Verfasser (Landsteiner u. Calvo, Umber, Oppenheimer u. Michaëlis, Michaëlis, Fuhrmann, Rostowski), welche diese Untersuchungsart angewendet haben, nachdem Nolf festgestellt hatte, daß die präzipitierende Wirkung an die Globuline und nicht an die Albumine gebunden ist, müssen übereinstimmend schließen, daß die präzipitierende Reaktion nicht für ein biologisches Mittel gehalten werden kann, die Eiweißkörper zu identifizieren, sondern darauf beschränkt bleiben muß, die Herkunft einer Rasse von einer anderen zu differenzieren.

Nicht nur das mit einer Fraktion bereitete Serum fällt mehr oder weniger auch die anderen Teile, sondern einige Eiweißkörper, wie das isolierte Albumin und das Hämoglobin (Nolf), erweisen sich unfähig, durch Impfung die präzipitierende Reaktion hervorzurufen; in den Versuchen von Michaëlis gibt das injizierte Kalbserum ein Präzipitin nur für die Globuline; wenn das getrennte Albumin injiziert wird, erzielt man ein Präzipitin sowohl für das Globulin wie für das Albumin; das Pepton gab ein sowohl gegen das Stammalbumin, wie gegen dasselbe Pepton unwirksames Serum. Noch bemerkenswerter ist die von Pick für die Bakteriokoaguline und von Obermeyer und Pick für die Präzipitine des Eialbumins nachgewiesene Tatsache, daß durch geeignete Methoden das wirksame präzipitierende Prinzip frei von Eiweißkörperreaktionen bereitet werden kann; daher wären die Agentien der Fällung irgend etwas Fremdes, das bloß den Bruchteilen der Proteine beigemischt ist wegen der Unvollkommenheit unserer Mittel, sie davon zu trennen, wie sich dies auch für andere Antikörper, wie jene der Cholera (Wolff) ergibt.

Auch die mit anderen Proteinen ausgeführten Untersuchungen haben angesichts der angestellten Versuche bloß höchst geringfügige Beispiele für Spezifität gegeben. Wir haben diejenigen von Schütze über das Myoalbumin und von Hamburger über das Casein zitiert; auch Moro findet, daß das Milchserum immer in maximalem Grad auf die Milch des Tieres wirkt, das das vaccinierende Material geliefert hat; M. Ascoli ist auch der Annahme einer Spezifität in Bezug auf die verschiedenen Bestandteile desselben immunisierenden Serums geneigt. Andererseits hat man auch bei zytotoxischen Seris im allgemeinen eine zerstörende Wirkung für das entsprechende Organ bemerkt, auch hier aber nicht völlig frei von Ausnahmen, und für einige ist es noch zweifelhaft, ob es sich nicht um eine allgemeine Wirkung handelt.

Es ist aber wenig Hoffnung vorhanden, spezifische Autozytopräzipitine zu erzielen, wenn es sich um die einfache Absorption der Bestandteile der in ihrer normalen Zusammensetzung gebliebenen Gewebe handelt. Für die pathologischen Gewebe konnten aber die Versuche mit größerer Erwartung wieder begonnen werden, da man voraussetzen konnte, daß der Krankheitserreger, sei es durch seine direkte Absorption (spezifische Reaktion von Kraus für die Bakterienprodukte), sei es durch irgendwelche, dem normalen Eiweißkörpermolekül eingeprägte wesentliche Veränderungen, neue Elemente in den Kreislauf brächte, welche durch ihren heterogenen Charakter fähig wären, den Organismus zu einer präzipitierenden Reaktion entsprechenden Charakters anzuregen. Ich habe gesagt, daß die zahlreichen Proben, die ich nach dieser

Richtung hin mit Material von Versuchstieren und von Menschen ausgeführt habe, wenig günstig für diese Erwartung ausgefallen sind. Jedoch kann man auch für die in Rede stehende Antikörperart, wie für die Heteropräzipitine und die zytotoxischen Sera im allgemeinen die Existenz der Spezifität nicht absolut ausschließen, da ich einigen deutlichen Beispielen in Bezug auf gegebene Organe, auf Rasse und spezielle pathologische Veränderungen begegnet bin. Schon von D'Ormea wurden aus diesem Laboratorium bemerkenswerte Resultate in diesem Sinne veröffentlicht, wo das Serum von Pellagrakranken eine ausgesprochene Prädisposition für die Präzipitierung seiner eigenen stärker erkrankten Organe zeigte, die ihrerseits hingegen keine Wirkung von einem Serum einer anderen Affektion, der syphilitischen, erfuhren, welches wohl eigene Organe reichlich präzipitierte.

Die isolierte Fällung eines Organs scheint leichter im Anfang der Krankheit zum Vorschein zu kommen, wo das mehr betroffene Organ allein reagiert, und die weitgehende Anhäufung der Reaktionen in den ferneren Perioden vermieden wird. So bekommt man beim Hund mit chronischer Diphtherie, wo die Blutprobe am 14. Tage entnommen wurde, mit der Niere eines normalen Hundes einen deutlichen Niederschlag, welcher mit der Leber, der Milz, dem Herzen, dem Pankreas und dem Knochenmark vollkommen ausbleibt; mit der Nebenniere ist der Niederschlag überreich, während sie bloß geringe Mengen desselben mit dem Serum des Tieres hervorruft, das sie geliefert hat. In der Blutprobe vom 21. Tage wird die Fällung mit der Nebenniere deutlicher, während die Probe mit der Leber und dem Herzen negativ ist. Auch beim Hunde mit Chromat ruft die Nebenniere am 54. Tage einen Niederschlag hervor, welcher in den Proben mit der Leber, dem Herzen, der Niere, der Milz fehlt. Bei der Nebenniere ist die autozytopräzipitierende Wirkung häufig und steht vielleicht in Zusammenhang mit ihrer Funktion, die histolytischen Ermüdungsgifte zu neutralisieren, indem sie sie hauptsächlich durch Fällung fixiert.

Der Beweis für spezifische Rassenabsorption wurde wahrgenommen, wenn man in Berührung mit dem Serum von der Mischintoxikation Stücken gewaschenen Blutgerinnsels ließ, welche demselben Tiere, einem normalen und einem mit Chromat behandelten Hunde und einem normalen Schafe entnommen wurden. Man findet, daß unter gleichen Bedingungen der normale und der mit Chromat behandelte Hund das Serum unwirksam gemacht haben, während bei den übrigen zwei Proben die zugesetzte Niere noch Niederschlag hervorruft; und dieses Ausbleiben einer vollständigen Fixierung kann man in dem einen Falle durch das heterogene Tier erklären, in dem anderen Falle dadurch, daß das obwohl homologe Gerinnsel schon vorher in Berührung mit seinem eigenen zytopräzipitierenden Serum sich gesättigt hat.

Die Spezifität der qualitativen Veränderung des Organs wurde schon in den ersten Versuchen der vorhergehenden Mitteilungen erwähnt, bei der Beobachtung, daß das Serum des Rabieskaninchens den Auszug der eigenen Niere und nicht jenen der gesunden Niere präzipitierte. Ein noch deutlicherer Nachweis wurde im Verlauf der Untersuchungen gewonnen, die dahin gerichtet waren, im Organismus den Ort der Entstehung des Zytopräzipitins festzustellen. Auf Grund der Erfahrungen mit Cholera-, Typhus-, Pneumokokken- etc. Antikörpern in Bezug auf die blutbildenden Organe, habe ich bei einigen an akuten Erkrankungsformen gestorbenen Tieren die Wirkung des Milzextrakts in Vergleich

mit jenem der anderen Organe desselben Tieres geprüft. Bei dem am 6. Tage an der Chromatintoxikation gestorbenen Hunde rief die Milz einen Niederschlag mit dem Auszug der eigenen Niere, keinen aber mit fremder Niere hervor, während das Blutserum noch vollständig unwirksam erschien.

Dieses Beispiel führt uns gleichzeitig zu der Annahme, daß das Autozytopräzipitin selbst auch zunächst in der Milz auftritt, und daß es sich um ein spezifisches Präzipitin für das von der Chromatwirkung veränderte Nierenplasma handele. Die Natur eines Präzipitins und nicht einer präzipitablen Substanz wird bei diesem Milzgewebederivate dann durch die Tatsache nachgewiesen, daß es gegen die Wärme die dem Präzipitin zukommende Empfindlichkeit zeigte, da es $\frac{1}{2}$ St. bis 53° erwärmt, seine Wirksamkeit verlor.

Diese Spezifizität der Autozytopräzipitine ergibt sich aber in einer so beschränkten Zahl von Fällen und in einem so wenig ausgesprochenen Grade, daß man derselben vorläufig nicht als einem brauchbaren diagnostischen Mittel trauen kann. Die ferneren Untersuchungen werden zeigen, ob sich diese spezifischen Prinzipie tatsächlich nicht bilden, oder aber ob die Fehler der gegenwärtigen Untersuchungstechnik, die wir später aufzählen werden, sie nicht festzustellen vermögen, oder ob sich die Spezifizität in einer anderen, von der präzipitierenden verschiedenen Reaktionsform offenbart, an welche wir uns wenden müssen.

V. Autozytopräzipitine und Blutgerinnung.

Die gemeinsame Eigenschaft des Blutes der Tiere, welche das Material für die vorliegenden Versuche geliefert haben, ist die Verspätung bei der Gerinnung gewesen. Bei dem Tuberkulösen wurde dasselbe bei der Nekroskopie 24 Stunden nach dem Tode flüssig gefunden; bei den Hunden bemerkte man, daß, während man im normalen Falle nach $\frac{1}{2}$ St. aus dem Gerinnsel die ersten Serummengen gewinnen kann, bei den behandelten Tieren der zentrale Teil noch flüssig war. Die beim Diphtheriehunde gemessene Zeit des Eintretens vollständiger Gerinnung war 37 Minuten, beim Kaninchen mit nephrotoxischer Impfung 21 Minuten. Eine fernere Bestätigung der antikoagulierenden Wirkung bei jenen Tieren bot die Tatsache, daß deren frisches, von Gerinnsel befreites Serum imstande war, die Gerinnung eines anderen, mit ihm gemischten Blutes, zu verzögern, und so die Fähigkeit einem fremden Blute zu erteilen.

Dieses gleichzeitige Vorhandensein von antikoagulierenden und zytopräzipitierenden Prinzipie in demselben Serum ist wichtig, bemerkt zu werden, da es uns zeigt, wie einige Reaktionen im Organismus in Koinzidenz mit anderen auftreten und uns gegenseitig bei der Aufklärung des Wirkungsmechanismus einer jeden helfen können. Wir erwähnen auch in dieser Hinsicht, daß einige der hier angewendeten Sera imstande waren, eine Widerstandsfähigkeit gegen allgemeine zerstörende Agentien sowohl eigenen Blutkörperchen, wie fremden Blutkörperchen und Geweben zu erteilen, wie dies ausführlich in einer anderen Arbeit über die biologischen Eigenschaften der Produkte der Autolyse dargelegt worden ist.

Eine andere Tatsache, welche die Blutgerinnung bei den behandelten Tieren betrifft, ist die, daß sich das Gerinnsel ganz wenig zusammenzog und immer nur spärliche Serummengen gewonnen wurden; wenn man das Gerinnsel dissoziierte und das auf diese Weise gewonnene blutige Serum in physiologischer Lösung suspendierte, um neues Serum

durch Sedimentierung und Zentrifugierung davon zu trennen, so sah man, daß im Tuberkulose- und Mischintoxikationsserum die Gerinnung wieder eintrat, und das Gerinnsel sich gar nicht mehr zusammenzog und jede Serumbildung aufgehoben wurde. Diese Tatsache ist leicht erklärbar nach dem, was wir über die Fällung durch Verdünnung gesagt haben; das zweite Gerinnsel bestand vollständig aus Präzipitin, wie es der negative Ausfall der Weigertschen Reaktion an demselben bestätigte. Auch am ersten Tuberkulosegerinnsel schien das Präzipitin teilgenommen zu haben, da, wenn man seinen im Wasser unlöslichen Rest nach dem Weigertschen Verfahren behandelte, gefärbte Fibrinfasern zwischen nicht gefärbten Massen auftraten.

Es ist wohl schon bekannt, daß diese Erscheinung der geringen Zusammenziehung des Gerinnsels, welche für das Blut einiger Tierarten, wie der Vögel, physiologisch ist, bei verschiedenen Krankheitsformen auftreten kann, und Hayem hat schon mehrmals die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, als er Fälle von Purpura hämorrhagica, von perniziöser Anämie, von Leukämie, von Malariakachexie etc. zitierte; und dazu hat Gley einige Versuchsbedingungen hinzugefügt, jene der Injektion von antikoagulierenden Substanzen in unvollständiger Dosis. Der erstere sucht eine Veränderung in der Qualität des Fibrins anzunehmen, der letztere neigt der Annahme einer unzureichenden Quantität desselben zu; wir sehen die Notwendigkeit, auch die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß es sich um eine Mischung von Autozytopräzipitinen mit ihrer Eigenschaft der beschränkten Zusammenziehbarkeit handelt.

Eine dritte Eigenschaft, welche die Gerinnung bei unseren Tieren betrifft, ist die, daß, wenn man zunächst das Serum von dem Gerinnsel entfernt, im neuen Serumgefäß noch ein gallertiges Gerinnsel erscheint, und dies kann man zwei- oder dreimal in den folgenden Tagen wiederholen; und wenn man auch nicht weiter das flüssige Serum entfernt, treten doch Zeichen von weiteren Gerinnungen auf, da man ein dickeres zentrales Gerinnsel findet, welches von dünneren Schichten umwickelt ist.

Diese sekundären, gallertigen und flockigen Niederschläge, die im Serum des an Tuberkulose gestorbenen Menschen und bei der Mischintoxikation mit der Weigertschen Reaktion geprüft wurden, zeigten negativen Ausfall und besaßen die übrigen Charaktere der Präzipitine. Fällungen, welche nach mehreren Tagen auftreten und wochenlang unverändert bleiben, während das Serum, das sie umgibt, sehr ausgesprochene präzipitierende Wirksamkeit behält, sprechen übrigens sehr wenig für eine genuine Fibrinbildung, da bekanntlich das Fibrinferment, Ferment im engeren Sinne, auch in geringer Menge, in verhältnismäßig kurzer Zeit das ganze, in einer großen Plasmamenge enthaltene Fibrinogen zu fällen vermag.

Man sollte denken, daß das Zyttopräzipitin in seiner nachgewiesenermaßen graduellen Wirkung allmählich mit den kleinen Mengen von präzipitabler Substanz reagiert, welche während der Gerinnung von den Blutkörperchen verbreitet wird, oder daß das Präzipitolysin, welches dasselbe gelöst hielt, durch die Aufbewahrung allmählich seine Wirksamkeit verliert. Sehr oft bemerkt man später auftretende Gerinnungen in den von geimpften oder von pathologischen Prozessen heimgesuchten Tieren entnommenen Seris, und bekanntlich bilden sich allmählich Flocken während der Aufbewahrung der für praktische Zwecke zubereiteten immunisierenden Sera; auch hier dürften, wenigstens teilweise, die Substanzen nicht fern sein, welche wir untersuchen.

(Forts. folgt.)

und erst durch sehr große Mengen toter Kulturmassen absorbierbar sind.

Es mußte ermittelt werden, ob zu diesem Serumimmunkörper ein passendes Komplement im Huhne selbst vorhanden sei und weiterhin, ob derselbe unter Verhältnissen, wie sie im Organismus vorliegen, an die Milzbrandbacillen herangelangen kann. Es zeigte sich bald, daß schließlich die beiden Fragen in eine einzige zusammenliefen.

Aber die ersten Versuche, angestellt in der Erwartung, daß entgegen dem Befunde beim Kaninchen, die Körperzellen den Immunkörper des Serums nicht binden würden, verliefen wenig ermutigend. Es wurde dabei Serum mit den Organen desselben Tieres 1 Stunde bei 37° belassen, dann meist zentrifugiert und schließlich Komplement zugesetzt. Leider ist es beim Huhne, wegen der langsamen Abscheidung des Serums, nicht möglich, die Versuche wie beim Kaninchen in kürzester Zeit herzustellen. Es wurde daher stets das Huhn am späten Abende verblutet, die Organe auf Eis aufbewahrt und dann am frühen Morgen der Versuch eingeleitet.

Tabelle I.

Großer Hahn. Die zerriebenen, mit dem Serum gemischten Organe wurden 1 Stunde bei 37° gehalten, dann zur Hälfte zentrifugiert und nach Zusatz von 0,05 ccm frischem Kaninchenserum mit Milzbrandbacillen geimpft.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hühnerserum		ca. 10 000
2)	1 " " + 0,05 ccm Kaninchenserum		192
3)	1 " " + Leber + 0,05 ccm Kaninchenserum	1023 im Mittel	} ca. 10 000
4)	1 " " + " zentrif. + 0,05 ccm Kan.-Ser.		
5)	1 " " + Milz + 0,05 ccm Kaninchenserum		
6)	1 " " + " zentrif. + 0,05 ccm Kan.-Ser.		
7)	1 " " + Niere + 0,05 ccm Kaninchenserum		
8)	1 " " + " zentrif. + 0,05 ccm Kan.-Ser.		
9)	1 " " + Muskel + 0,05 ccm Kaninchenserum		
10)	1 " " + " zentrif. + 0,05 ccm Kan.-Ser.		
11)	1 " " + Hoden + 0,05 ccm Kaninchenserum		
12)	1 " " + " zentrif. + 0,05 ccm Kan.-Ser.		

Es unterlag keinem Zweifel, daß diese Organe genau ebenso, wie beim Kaninchen, den Immunkörper des Serums absorbiert hatten. Nur ein Organ des Huhnes verhielt sich anders, das Knochenmark. Dieses verlieh dem eigenen Serum bakterizide Eigenschaften.

Tabelle II.

Große Henne. Die Mischungen der Organe mit dem Serum bleiben 1 Stunde bei 37°, werden dann zentrifugiert und sofort geimpft.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hühnerserum		ca. 10 000
2)	1 " " + 0,05 ccm Kaninchenserum		1
3)	1 " " + Hühnerknochenmark	1110 im Mittel	} ca. 10 000
4)	1 " " + " ") 1/2 Std. 58°		
5)	1 " " + Hühnerleber		
6)	1 " " + Hühnermilz		
7)	1 " " + Hühnerniere		
8)	1 " " + Hühnermuskel		
9)	1 " " + Hühnereierstock		

Das Eintreten einer, wenn auch noch mäßigen, so doch unzweideutigen Abtötung ist unverkennbar; dieselbe geht bei der üblichen Inaktivierungstemperatur verloren. Ein Zusatz von Kaninchenkomplement verändert, wie die folgende Tabelle zeigt, an dieser Erscheinung nicht viel.

Tabelle III.

Henne. Wie der vorige Versuch. Das zugesetzte Kaninchenserum a ist reines Serum, dem Kaninchenserum b wurden vorher die Immunkörper durch Behandlung mit Kaninchenleber entzogen.

			Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm	Hühnerserum		ca. 10 000
2)	1 "	" + 0,05 ccm Kaninchenserum a		11
3)	1 "	" + 0,05 " " b		49
4)	1 "	" + Knochenmark "		134
5)	1 "	" + " + 0,05 ccm Kan.-Ser. a	2668 im Mittel	192
6)	1 "	" + 0,05 " " b		368
7)	(1 "	") 1/2 Std. 58°		ca. 10 000
8)	1 "	NaCl		80
9)	1 "	" + " + 0,05 ccm Kan.-Ser. a		78
10)	1 "	" + 0,05 " " b		132
11)	(1 "	") 1/2 Std. 58°		ca. 10 000

Mit Berücksichtigung der hohen Einsaat ist die abtötende Wirkung eine sehr gute. Sie tritt auch in physiologischer NaCl-Lösung hervor, woraus zu schließen ist, daß im Knochenmarke des Huhnes sowohl ein Immunkörper als das neue Komplement nebeneinander vorhanden sind. Da aber die zum Versuche gelangenden Hühner nicht mit NaCl-Lösung durchspült wurden, so bleibt unentschieden, ob der Immunkörper dem Knochenmarke selbst angehört oder dem darin noch befindlichen Blute. Das Knochenmark aus den Ober- und Unterschenkeln, das der Hauptmasse nach verwendet wurde, ist sehr weich und fast schwarz.

Somit war zunächst festgestellt, daß nicht jedes Organ des Huhnes den Immunkörper, der im Serum gegen Milzbrand wirkt, absorbiert, daß vielmehr das Knochenmark noch überdies die Verleihung des sonst dem Blute fehlenden Komplementes, und zwar eines thermolabilen Komplementes, besorgt.

Auch fremde Sera werden durch Hühnerknochenmark wirksam, was in Anlehnung an bereits mitgeteilte Versuche mit Kaninchenorganen hier erwähnt sein mag.

Tabelle IV.

Henne. Organe mit dem eigenen, sowie mit Ochsen-, Schweine- und Kaninchenserum in gewöhnlicher Weise behandelt, dann zentrifugiert.

			Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm	Hühnerserum		ca. 10 000
2)	1 "	Ochsen Serum		ca. 6 000
3)	1 "	Schweineserum		ca. 10 000
4)	2 "	Kaninchenserum		0
5)	1 "	Hühnerserum mit Knochenmark	1119 im Mittel	188
6)	1 "	Ochsen Serum " "		1
7)	1 "	Schweineserum " "		?
8)	1 "	Kaninchenser. " "		484
9)	1 "	NaCl " "		60
10)	1 "	" " "		ca. 3 000
11)	1 "	Hühnerserum mit Leber		} ca. 10 000
12)	1 "	Ochsen Serum " "		
13)	1 "	Schweineserum " "		
14)	1 "	Kaninchenser. " "		
15)	1 "	NaCl " "		

Die übrigen untersuchten Organe (Milz, Niere, Muskel) zeigten in den Seris ungehemmtes Wachstum. Eine andere, bereits seit den Untersuchungen Petterssons¹⁾ bekannte Komplementquelle im Hühnerorganismus bieten die Leukocyten. Um durch Aleuronatinjektion in der

1) Pettersson, Dieses Centralbl. Bd. XXXIII. 1903. No. 8.

allgemein üblichen Weise zellreiche Exsudate zu erhalten, ist es dabei notwendig, die Tiere schon bald, etwa 6—8 Stunden nach der Einspritzung, zu töten. Flüssiges Exsudat ist meist auch dann nur wenig vorhanden, doch lassen sich durch Ausspülen der Bauchhöhle mit physiologischer Kochsalzlösung meistens hinreichende Mengen farbloser Blutkörperchen gewinnen.

Tabelle V.

Große Henne, 7 Stunden nach intraperitonealer Aleuronatinjektion verblutet. Aus der Bauchhöhle lassen sich ca. 1 $\frac{1}{4}$ ccm leukocytenreichen Exsudates entnehmen. Die daraus abzentrifugierten und gewaschenen Zellen werden in Hühnerserum und physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, die zellfreie Exsudatflüssigkeit für sich untersucht.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Hühnerserum	1440 im Mittel	8000
2) 1 „ „ + Leukocyten		2
3) 1 „ Exsudatflüssigkeit		6442
4) 1 „ NaCl + Leukocyten		0

Es war somit nachgewiesen, daß tatsächlich im Hühnerorganismus die Fähigkeit der Milzbrandabtötung vorhanden ist, wenn sie auch beim normalen Huhne nicht im Blute und Serum auftritt. Eine weitere Frage war es aber nun, ob diese Fähigkeiten im Tiere selbst zur Geltung kommen können oder ob sie nicht, ebenso wie dies für das Kaninchen bereits auseinandergesetzt wurde, für den lebenden Organismus wertlos sind.

Es wurde für diese Untersuchung die im VII. Abschnitte beschriebene direkte Methode angewendet, d. h. das durch Leukocyten oder Knochenmark aktiv gemachte Hühnerserum wurde mit Organzellen versetzt und sofort Milzbrand eingesät. Alle Organe stammten von einem Tiere. Genügte voraussichtlich die von einem Huhne zu erlangende Serummenge nicht zum Versuche, so wurden gleichzeitig 2 Tiere verblutet, ihre Sera gemischt und ebenso auch die Organe gemeinsam verrieben. Dabei stellte es sich als notwendig heraus, das Knochenmark oder die Leukocyten, die zur Aktivierung des Hühnerserums dienen, nicht vor Zusatz der Organzellen abzentrifugieren, sondern während der ganzen Versuchsdauer in Mischungen zu belassen. Ob es sich nur um eine sehr langsame Abgabe des Knochenmarkkomplementes an das Serum handelt oder ob der Einfluß der eingebrachten Milzbrandbacillen die Abgabe erst in Gang bringt, ist mit Sicherheit noch nicht entschieden. — Um die Verhältnisse im Hühnerorganismus noch weiter nachzuahmen, wurden die folgenden Versuche bei einer Temperatur von 41—42° ausgeführt (s. Tab. VI u. VII).

Die keimtötende Wirkung des mit Knochenmark oder mit Leukocyten oder mit beiden aktivierten Hühnerserums läßt namentlich im Versuche der Tabelle VII wenig zu wünschen übrig¹⁾. Der Zusatz von Organzellen im Ueberschuß alteriert die Bakterizidie nur so wenig, daß im letzten Versuche nicht einmal mehr die paralyisierende Wirkung der Niere, die sonst beim Huhne sehr stark ist, hervortritt.

Immerhin erwies sich in der Reihe der angestellten Versuche das Knochenmark verlässlicher als die Leukocyten, indem diese zwar immer das Serum gut aktivierten, diese Aktivität aber durch Zusatz von Organzellen wieder verloren ging, was beim Knochenmarke nicht vorkam. Nur die Niere und manchmal die Leber vermochten auch dann eine gewisse Absorption herbeizuführen (s. Tab. VIII).

1) Weitere Beispiele in den später anzuführenden Tabellen.

Tabelle VI.

Mit Aleuronat intraperitoneal injizierte Henne. Flüssiges Exsudat war in der Bauchhöhle nicht vorhanden, doch ließen sich durch Ausspülen mit NaCl-Lösung ziemlich reichlich Leukocyten gewinnen.

		Sofort	Nach 3 Stdn.	Nach 7 Stdn.
1)	1 ccm Hühnerser.		1536	über 8000
2)	1 " " + Leber		2032	8840
3)	1 " " + Milz		1640	8000
4)	1 " " + Niere		2328	6805
5)	1 " " + Muskel		ca. 4000	ca. 10 000
6)	1 " " + Leukocyten	492 im Mittel	23	41
7)	1 " " + " + Leber		1112	172
8)	1 " " + " + Milz		656	752
9)	1 " " + " + Niere		1496	1136
10)	1 " " + " + Muskel		1696	340
11)	1 " " + Knochenm.		17	14
12)	1 " " + " + Leukocyten		8	3
13)	1 " " + " + " + Leber		{592	{ 54
14)	1 " " + " + " + Niere		{428	{128
15)	1 " " + " + " + Muskel		480	188
			328	324

Tabelle VII.

Große, mit Aleuronat injizierte Henne.

		Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 6 Stdn.
1)	1 ccm Serum		über 1000	ca. 10 000
2)	1 " " + Leber			
3)	1 " " + Milz			
4)	1 " " + Muskel ¹⁾			
5)	1 " " + Leukocyten		1	2
6)	1 " " + " + Leber		28	34
7)	1 " " + " + Milz		41	2
8)	1 " " + " + Niere		816	616
9)	1 " " + " + Muskel		240	4
10)	1 " " + Knochenmark		2	0
11)	1 " " + " + Leber	778 im Mittel	23	7
12)	1 " " + " + Milz		2	0
13)	1 " " + " + Niere		9	11
14)	1 " " + " + Muskel		37	23
15)	1 " NaCl-Lösung		416	1960
16)	1 " " + Leukocyten		19	1
17)	1 " " + " + Leber		720	1024
18)	1 " " + " + Milz		824	576
19)	1 " " + " + Niere		880	1072
20)	1 " " + " + Muskel		608	8000
21)	1 " " + Knochenmark	1	2	
22)	1 " " + " + Leber	784	3280	
23)	1 " " + " + Milz	448	1664	
24)	1 " " + " + Niere	688	2384	
25)	1 " " + " + Muskel	1008	ca. 10 000	
26)	1 " Serum + Leukocyten + Kn.-M.	0	0	
27)	1 " NaCl-Lösung + " + "	0	0	

In NaCl-Lösung mit den Organen allein war reichliche Vermehrung eingetreten. Nur der Hoden lieferte nach 2 und 6 Stunden nur 760 bzw. 1256 Kolonien.

Im Anschlusse an den Versuch der Tabelle VIII sei auf die unverkennbar entwicklungshemmende Wirkung hingewiesen, die vom Hoden ausging. Es kam im Laufe der mehr als 40 Hühnerversuche mehrfach vor, daß Organe, die sonst wirkungslos waren, mit Serum zusammen eine Wachstumsbehinderung hervorbrachten. Diese Wirkung war weder

1) Das Kontrollröhrchen Serum + Niere ging verloren.

Tabelle VIII.
Große Henne, nach Aleuronatinjektion verblutet.

				Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 6 Stdn.
1)	1 ccm	Hühnerserum			?	ca. 10 000
2)	1 "	"	+ Leber		1304	ca. 10 000
3)	1 "	"	+ Niere		1104	5000
4)	1 "	"	+ Hoden		648	2368
5)	1 "	"	+ Muskel		832	ca. 10 000
6)	1 "	"	+ Leukocyten		0	0
7)	1 "	"	" + Leber		1016	4000
8)	1 "	"	" + Niere		904	3376
9)	1 "	"	" + Hoden		872	216
10)	1 "	"	+ Knochenmark		0	0
11)	1 "	"	" + Leber	1045 im Mittel	368	384
12)	1 "	"	" + Milz		4	14
13)	1 "	"	" + Niere		436	408
14)	1 "	"	" + Hoden		77	71
15)	1 "	"	" + Muskel		2	3
16)	1 "	NaCl-Lösung			1408	3000
17)	1 "	"	+ Leukocyten		24	0
18)	1 "	"	" + Leber		2268	1458
19)	1 "	"	" + Niere		3000	8000
20)	1 "	"	" + Hoden		348	82
21)	1 "	"	+ Knochenmark	8	0	
22)	1 "	"	" + Leber	1176	1318	
23)	1 "	"	" + Milz	492	3500	
24)	1 "	"	" + Niere	468	2480	
25)	1 "	"	" + Hoden	1440	2736	
26)	1 "	"	" + Muskel	60	480	

stark noch trat sie regelmäßig auf; aber sie beweist doch, um wieviel anders sich der Organismus des Huhnes als der des Kaninchens verhält.

Die mitgeteilten Versuche beweisen hinreichend, daß das Zusammen-treten des im Serum befindlichen Immunkörpers mit einem im Knochen-marke und den Leukocyten befindlichen Komplemente möglich ist und daß die dadurch wirksam gewordene Verbindung beider durch die Anwesenheit von Körperzellen nicht oder nur wenig verhindert wird, Milz-brandbacillen anzugreifen.

Es war aber notwendig, zu untersuchen, ob nicht auch das Kaninchen-serum bei Anwesenheit von Knochenmark oder Leukocyten und Organ-zellen sich anders verhalte, als bei Gegenwart von Organzellen allein. Wahrscheinlich war wohl diese Möglichkeit von vornherein nicht, da ja das Knochenmark in der Regel den Serumimmunkörper absorbiert und die Leukocyten die milzbrandtötende Serumwirkung zum mindesten nicht verbessern. Gleichwohl sei ein diesbezüglicher Versuch hier angeführt, der deshalb besonders beweisend ist, weil hier die dem Serum zuge-setzte Menge von Organzellen zu gering war, um dasselbe vollständig zu erschöpfen (s. Tab. IX).

NaCl-Lösung mit Organen allein und mit diesen + Knochenmark lieferte reichliches Wachstum. NaCl-Lösung mit Leukocyten allein ergab Abtötung, mit den Organen reichliches Wachstum.

Wenn überhaupt jemals, so war in diesem Versuche Gelegenheit geboten, eine Beeinflussung der Wirkung des Kaninchen-serums durch Leukocyten und Knochenmark zu zeigen. Denn mit Rücksicht darauf, daß so kleine Organe, wie die Lymphdrüsen, über eine größere Anzahl von Einzelproben zu verteilen waren, daher die auf 1 ccm entfallende Zellmenge auch bei den anderen Organen zu gering wurde, fand gar keine vollständige Absorption der Serumimmunkörper statt. Dennoch änderte der reichliche Leukocytenzusatz nicht das geringste und der

Tabelle IX.

Großes, mit Aleuronat intrapleural injiziertes Kaninchen. Es lassen sich ca. 24 ccm sehr zellreichen Exsudates entnehmen, von dem 4 ccm als solche verwendet werden. Der Rest wird zentrifugiert und der Zellsatz ungefähr in 20 ccm NaCl aufgeschwemmt. Je 6 ccm davon wurden zentrifugiert und je 6 ccm Serum des gleichen Kaninchens bzw. NaCl-Lösung zugesetzt. Das rote Knochenmark aller größeren Knochen des mit NaCl-Lösung ausgewaschenen Tieres wird in entsprechender Menge im eigenen Serum sowie in NaCl-Lösung verteilt.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Kaninchenserum		0
2)	1 " " + Leber		2560
3)	1 " " + Milz		192
4)	1 " " + Drüse		208
5)	1 " " + Niere		1040
6)	1 " " + Muskel		456
7)	1 " " + Knochenmark		1584
8)	1 " " " + Leber		2448
9)	1 " " " + Milz		960
10)	1 " " " + Drüse		2048
11)	1 " " " + Niere		2160
12)	1 " " " + Muskel		3500
13)	1 " " + Leukocyten	1544 im Mittel	8
14)	1 " " " + Leber		848
15)	1 " " " + Milz		952
16)	1 " " " + Drüse		180
17)	1 " " " + Niere		1104
18)	1 " " " + Muskel		640
19)	1 " Vollexsudat		49
20)	1 " " + Leber		992
21)	1 " " + Niere		416
22)	1 " " + Muskel		320
23)	1 " Exsudatflüssigkeit		0
24)	1 " " + Leber		2880
25)	1 " " + Niere		} ca. 5000
26)	1 " " + Muskel		

von Knochenmark führte sogar, wie nach dem Ausfalle der Probe 7 nur natürlich, eine fast vollständige Absorption herbei. Das Vollexsudat verhielt sich ungefähr wie das Serum + Leukocyten, während die Exsudatflüssigkeit glatt absorbiert wurde.

Dennoch wäre es voreilig, aus dem entgegengesetzten Verhalten des Kaninchens und Huhnes bei diesen Versuchen einen fundamentalen Unterschied zwischen natürlich empfänglichen und natürlich immunen Tieren ableiten zu wollen. Ein solches existiert in voller Schärfe nicht, wie dies namentlich Versuche an dem so hoch empfänglichen Meer-schweinchen beweisen.

Tabelle X.

Großes Meerschweinchen, 18 Stunden nach einer intraperitonealen Aleuronatinjektion verblutet. Durch Ausspülen der Bauchhöhle mit NaCl-Lösung lassen sich reichlich Leukocyten gewinnen, die ebenso wie das Knochenmark in 2 Teile geteilt und mit dem Serum des gleichen Tieres und NaCl-Lösung vermischt werden. Keine der Proben wird zentrifugiert.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Serum		ca. 5000
2)	1 " " + Knochenmark		1056
3)	1 " " + Leber		752
4)	1 " " + Milz		ca. 5000
5)	1 " " + Niere		1312
6)	1 " " + Leukocyten	1232 im Mittel	2364
7)	1 " " + Leber		256
8)	1 " " + Milz		3168
9)	1 " " + Niere		264

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen.

[Aus dem Privatinstitut von Prof. Dr. S. Kitasato.]

Von S. Endo, Assistenten.

Die Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen im Kot sind bisher von verschiedenen Autoren in verschiedener Weise angegeben worden, welche aber nicht immer zuverlässig sind. Neuerdings haben v. Drigalski und H. Conradi eine Methode der Isolierung der Typhusbacillen im Kot mitgeteilt, welche jetzt allgemein anerkannt worden ist.

Die Platten, welche die genannten Forscher benutzen, sind von Anfang an mit Lackmus blau gefärbt, deshalb ist die Erkennung der geringfügigen roten oder blauen Färbung der Kolonien mehr oder weniger unsicher. Außerdem scheint mir die Zubereitung des Nährbodens etwas kompliziert zu sein.

Ich habe auch seit langer Zeit darüber gearbeitet und schließlich ein anderes Verfahren gefunden, das ich im folgenden kurz mitteilen möchte:

Der Nährboden besteht hauptsächlich aus Milchzucker, Fuchsin und Natriumsulfid, nämlich:

- 1000 ccm neutralisierter Agarnährboden (3 Proz. Agar);
- 10 g chemisch reiner Milchzucker;
- 5 ccm alkoholische Fuchsinlösung;
- 25 ccm 10-proz. Natriumsulfidlösung;
- 10 ccm 10-proz. Sodalösung.

Dieser Nährboden wird folgendermaßen zubereitet: Man setzt zu 500 g zerhacktem Rindfleisch 1 l Wasser, 10 g Pepton, 5 g Kochsalz und 30 g Agar, kocht gut, filtriert, neutralisiert und fügt nochmals 10 ccm einer 10-proz. Sodalösung hinzu, um zu alkalisieren. Dann kommen Milchzucker und Fuchsinlösung zu, wodurch der Nährboden rot gefärbt wird; danach wird Natriumsulfidlösung zugesetzt, wodurch sich der Nährboden allmählich entfärbt, aber erst dann ganz farblos wird, wenn der Agar erstarrt ist.

Nachdem der Nährboden in Reagenzgläser (je 15 ccm) gefüllt worden ist, wird er 30 Minuten lang im Dampfapparat sterilisiert.

Zu bemerken ist dabei:

1) Der Milchzucker muß chemisch rein sein, denn der käufliche Milchzucker enthält gewöhnlich Rohrzucker und mit diesem Rohrzucker bilden die Typhusbacillen Säure, infolgedessen wird es sehr schwer, sie von den Coli-Bakterien zu unterscheiden.

2) Die Natriumsulfidlösung muß entweder in einer gut zugeschlossenen Flasche aufbewahrt oder zum Gebrauche frisch zubereitet werden.

3) Die alkoholische Fuchsinlösung muß vorher filtriert werden.

4) Der Nährboden muß im Dunkeln aufbewahrt werden, sonst nimmt er beim Lichtzutritt allmählich eine rote Färbung an.

Beim Gebrauche wird der Nährboden verflüssigt und in sterilisierte Petrische Schalen gegossen und eine Zeitlang (15 Minuten und darüber) an staubfreiem Orte offen stehen gelassen, bis er erstarrt.

Die Platten werden nach dem Erkalten ganz farblos und durchsichtig.

Die Aussaat des Materiales (Kot) auf Platten wird nach v. Drigalski und H. Conradi mit Γ -förmigen Glasstäbchen durchgeführt. Dann werden die Platten im Brutschrank bei 37° C aufgestellt. Schon nach 15 Stunden werden die Kolonien der Coli-Bakterien vom Zentrum aus allmählich rot, nach 24 Stunden ganz schön rot; die Kolonien sind rund und am Rande hervorragend.

Die Typhusbacillen bilden dagegen runde, farblose, am Rande dünne Kolonien. Man kann die beiden Kolonien sofort makroskopisch unterscheiden, weil die Coli-Bakterien rot aussehen und die Typhusbacillen farblos sind, auch werden die farblosen Typhusbacillen mit Typhusimmunserum agglutiniert.

Nach mehr als 24 Stunden werden die Coli-Kolonien tiefrot, gegen Reflexlicht zeigt die Oberfläche der Kolonien einen grünen Glanz, ähnlich Fuchsinkristallen. Die Typhuskolonien bleiben immer farblos, werden allmählich größer und erreichen endlich den doppelten Umfang als die Coli-Bakterien.

Was nun den Chemismus des Farbumschlages des Nährbodens anbelangt, so kann man folgendes annehmen: Fuchsin besteht wesentlich aus salzsaurem Rosanilin $C_{20}H_{19}N_3HCl$. Rosanilin ist eine farblose sogenannte Leukobase, die mit verschiedenen Säuren, wie Milchsäure, Salzsäure etc., einen roten Farbstoff bildet.

Der Säurekomponent des roten Rosanilinsalzes wird durch Reduktionsmittel, wie Natriumsulfit, leicht reduziert. Das dadurch entfärbte Rosanilin verbindet sich mit der durch Coli-Bakterien produzierten Säure, und der Nährboden färbt sich schön rot.

Es gibt im Kot manchmal Coli-Bakterien, welche den Typhusbacillen sehr ähnlich sind und den Milchzucker-Lackmusnährboden nicht rot färben, die aber doch etwas schwache Säure produzieren; selbst diese Bakterien zeigen auf meinem Nährboden rote Färbung.

Die Vorzüge des Nährbodens sind also:

- 1) Die Zubereitung desselben ist ganz einfach.
- 2) Er ist farblos und durchsichtig, daher sind sowohl makroskopische als auch mikroskopische Untersuchungen der Kolonien sehr leicht.
- 3) Die Kolonien der Coli-Gruppen werden rot gefärbt, während die der Typhusbacillen farblos bleiben.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, den Herren Prof. S. Kitasato und Dr. T. Kitashima für ihre Anregung zu dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Tokio 1903.

Nachdruck verboten.

Neue Beobachtungen über das desinfizierende Vermögen der Wandanstriche.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität zu Genua (Direktor: Prof. P. Canalis).]

Von Dr. **Ghiglione Gian Carlo**, Assistenten.

Bis vor wenigen Jahren ging man darauf aus, die Wände der Operationssäle, der Spitäler, der Schulen und überhaupt der Versammlungslokale mit einem glatten, widerstandsfähigen, undurchdringlichen Firnis anzustreichen, um die Staubmasse, welche sich dort ansetzen könnte, zu vermindern und das Waschen und Desinfizieren zu erleichtern.

Erst neulich dachte man daran, einen Firnis anzuwenden, welcher außer den obengenannten Eigenschaften die Eigentümlichkeit besäße, eine vernichtende Tätigkeit auf die Mikroorganismen auszuüben, welche mit ihm in Berührung kämen.

Diese Neuerung ist vom praktischen Gesichtspunkte aus sehr wichtig. In der Tat, wenn man mit Sicherheit beweisen kann, daß einige Wandanstriche energische bakterizide Fähigkeit besitzen, könnte man die Desinfizierung der Wände sicherer und billiger erhalten, als durch künstliche Mittel, welche manchmal noch unvollständig sind.

Verschiedene Beobachter haben sich damit beschäftigt, sei es um den Lebenswiderstand der gewöhnlichsten ansteckenden Keime auf Wänden zu bestimmen, welche mit dem gebräuchlichsten Anstrich überstrichen waren, sei es um die bakterizide Wirkung festzusetzen, welche einige von diesen auf das Leben der pathogenen Mikroorganismen ausüben können.

Ich verweise auf die Arbeiten von Lo Bosco (1), Deycke (2), Heimes (3), Jakobitz (4), Rapp (5), und auf die Zusammenstellung, welche Lydia Rabinowitsch (6) in ihrer Arbeit gemacht hat.

Lo Bosco verneint ohne jeden experimentellen Beweis irgend eine chemische Tätigkeit bei verschiedenen von ihm untersuchten Anstrichen. Der große Einfluß der Feuchtigkeit der Wände auf die Lebenserhaltung der Keime wird auf einer Mörtelübertünchung bewiesen und auf alle anderen ausgedehnt, auch auf jene undurchdringlichen (*Psirganoma*).

Heimes beginnt seine Untersuchungen nicht auf Wänden, sondern auf Holzplatten, welche vor kurzem angestrichen wurden. Dieser Methode folgen dann alle Beobachter nach ihm, indem sie nicht auf Wänden, sondern auf Holzplatten ihre Untersuchungen machen.

Jakobitz, welcher die Frage erschöpfender löst als die anderen, beschäftigt sich nicht mit dem Einfluß der wichtigen, physischen Mittel (wie der Feuchtigkeit der Umgebung, der Feuchtigkeit der Unterlage); und von dem Licht sagt er, es habe keinen Einfluß auf die Erhaltung der Keime.

Rabinowitsch zeigt uns, daß für den Tuberkelbacillus das Licht in bemerkenswerter Weise schädlichen Einfluß hat, aber sie beschäftigt sich nur mit der einen Seite der Frage. Die von Jakobitz und Rapp über die Dauer dieses desinfizierenden Vermögens erhaltenen Ergebnisse stimmen nicht überein.

Nachdem ich die kleine Anzahl der bis jetzt veröffentlichten Arbeiten, die Unvollständigkeit der Untersuchungen einiger, die Verschiedenheit der Ergebnisse, welche von anderen erhalten wurden, gegeben habe, hielt ich es für geeignet, das Studium dieser Frage wieder aufzunehmen, und ich habe mich damit beschäftigt, die desinfizierende Wirkung einiger Firnisse zu bestimmen, die Faktoren zu prüfen, welche diese Wirkung begünstigen oder verringern, und ihre Dauer festzusetzen. Zu diesem Zweck habe ich nicht allein zur Untersuchung gefirnisster Platten meine Zuflucht genommen, wie die von mir zitierten Autoren es getan haben, sondern ich habe meine Versuche an angestrichenen Wänden ergänzt und mich so mit den Umständen in Einklang gebracht, welche sich in der Praxis finden. Zuletzt habe ich den Widerstand derselben den gebräuchlichsten Desinfektionsmitteln gegenüber studiert.

Untersuchungsmethoden.

Erster Teil.

Zum Beweise der reinen und einfachen desinfizierenden Eigenschaft gewisser Wandfirnisse habe ich mich der Methode bedient, welche fast von allen neueren Autoren benutzt wurde, mit den Modifikationen, welche ich auseinanderzusetzen werde.

Ich machte meine Versuche mit den Firnissen:

Zonca & Co.	— Venedig
Ricimper	— Cassanello e Brocchi, Genua
Galvaneide	— Marinetti, Mailand.

Ich strich verschiedene Holz- und Eisenplatten von ungefähr 150 qcm mit den genannten Firnissen an, und nach 4–5 Tagen, das heißt sofort nachdem sie gut trocken waren, versicherte ich mich ihrer Sterilität. Zu diesem Zweck rieb ich die gefirnissten Oberflächen mit einem sterilisierten Schwämmchen ab, welches ich alsdann in Bouillon legte und einer Wärme von 37° aussetzte. Wenn ich nach 48 Stunden keine Entwicklung wahrnahm, hielt ich die Sterilität für bewiesen, nachdem ich mich davon schon durch die wiederholten Versuche überzeugt hatte, in welchen ich die Schwämme 8–10 Tage in Beobachtung hielt. Dann impfte ich die Platten, welche in Tyndal-Schalen gehalten waren, um sie vor den Luftkeimen zu schützen, mit 24-stündigen Bouillonkulturen von bestimmten Bakterien. In diese tauchte ich einen sterilen kleinen Pinsel ein, mit welchem ich das Kulturmaterial in eine dünne Schicht auszurollen suchte, so daß es für die ganze angestrichene Oberfläche gleichartig verteilt war. Man mußte alsdann einen Teil des angewendeten Materials entfernen und beobachten, ob die darin enthaltenen Keime noch entwicklungsfähig waren. Alle meine Vorgänger, mit Ausnahme von Rabinowitsch, schabten Teile der infizierten Oberflächen mit sterilen Messern und das Abgeschabte brachten sie in Bouillon und beobachteten, bis wann man nach der Impfung die Entwicklung erhielt, indem sie dieselben 6–10 Tage 37° ausgesetzt ließen. Nun kann man bei aller Vorsicht zusammen mit dem ausgearbeiteten Material kleine Teile des Firnis mitnehmen.

Ich stellte mir daher die Frage, ob dies auf die Genauigkeit der Ergebnisse keinen Einfluß haben könnte, sei es durch eine kontinuierliche desinfizierende Wirkung durch Berührung dieser Teilchen mit den Keimen, sei es durch irgend einen Bestandteil der Firnisse, welcher

sich in der Bouillon auflösen und sie weniger günstig für die Entwicklung der Keime selbst machen könnte.

Aus den von mir gemachten Untersuchungen, welche ich der Kürze halber nicht beschreibe, geht hervor, daß ein solcher Grund des Irrtums nicht besteht, weil sich trockenes Leinöl im Wasser und in der Bouillon nicht löst. Die mineralischen vertrocknenden Stoffe und die Farben kommen in der Desinfizierung nicht in Betracht.

Die Resultate erlaubten den Gebrauch von Firnishäutchen, um die desinfizierende Tätigkeit zu beweisen, da diese den Vorteil bieten, den bestrichenen Teil ganz mit der Nährbouillon in Berührung zu bringen, weshalb, wenn nur noch ein lebender Keim existierte, eine Entwicklung stattfinden müßte.

Deswegen habe ich in gleicher Zeit und in indifferenter Weise auf den gefirnisten Platten und auf den Firnishäutchen den Widerstand des Bacillus des Typhus und der Pest, des Choleravibrio, des Staphylococcus p. aureus untersucht. Bei jedem Versuch bewahrte ich einen Teil der Platten und Häutchen in Tyndal-Schalen bei mattem Licht und bei der Feuchtigkeit des Laboratoriums (55—60 Proz.) auf, einen Teil in dunkler Umgebung, gesättigt von Feuchtigkeit.

Zur Kontrolle infizierte ich mit demselben Material den Boden der sterilen Petri-Schalen, auf welchen ich dann mit den Schwämmen in denselben Zeiten und in derselben Weise verfuhr, wie bei den gefirnisten Platten.

Der Vorgang war identisch mit jenem, welchen ich schon erörterte, als ich von den Kontrollversuchen sprach, welche bei den gefirnisten Platten und den Firnishäutchen gemacht wurden.

Wenn ich eine Entwicklung beobachtete, versicherte ich mich durch mikroskopische und kulturelle Untersuchungen, daß es sich um den Mikroorganismus handelte, welchen ich angewendet hatte.

In den folgenden Tabellen sind die erhaltenen Resultate auseinandergesetzt.

Die bemerkenswerte Verschiedenheit des Lebenswiderstandes derselben Keime, welche mit den Oberflächen in Berührung gebracht sind, welche frisch gefirnist sind, und auf indifferentes Material (Glas), zeigt uns, daß aus den untersuchten Firnissen sich eine bakterizide Wirkung entwickeln muß.

Die erhaltenen Resultate können auf keine andere Weise erklärt werden, da die Bedingungen des Lichtes, der Feuchtigkeit und der Temperatur dieselben waren.

In beiden Firnissen zeigt sich eine solche Wirkung fast in gleichem Maße; die Bakterien auf der einen wie auf der anderen sterben fast in derselben Zeit.

Die Resultate, welche ich erhielt, sind nicht viel verschieden von jenen, welche Jakobitz auf demselben Firnis (Zonca) erhalten hat, und die Differenzen können sich aus der Verschiedenheit der Kulturen, des Klimas u. s. w. erklären. Man muß aber bemerken, daß die bakterizide Wirkung, welche sich aus den Firnissen entwickelt, welche ihren Platz in einer feuchten Luft (50—60 Proz.) haben, bedeutend größer ist als jene, welche sich im Dunkel und bei einer Feuchtigkeit bis zur Sättigung nachweisen läßt.

Ich beobachtete, daß die untersuchten Keime, wie wenig widerstandsfähig sie auch waren (z. B. Cholera), soweit die flüssige Schicht,

welche dieselben enthielt, nicht ganz trocken war, sich entwickelungsfähiger hielten. Nun ging die Trocknung der Schicht mit bakterischem Material ziemlich rasch vor sich auf den Oberflächen, welche der Feuchtigkeit der Luft des Laboratoriums (2—4 Stunden) ausgesetzt waren, viel langsamer auf jenen, welche in einer von Feuchtigkeit gesättigten Umgebung gehalten waren. Ferner habe ich gefunden, daß der größere Lebenswiderstand der Keime nicht von der Dunkelheit, sondern von der Feuchtigkeit bis zur Sättigung abhängt.

Ich setzte in der Tat die infizierten Platten in einem geschlossenen Glasgefäße, gesättigt von Feuchtigkeit, dem matten Lichte und der Dunkelheit aus und erhielt keine verschiedenen Resultate.

Einige Male mußte ich einen größeren Widerstand auf Platten, welche in Licht gehalten waren, konstatieren.

Dieses würde die Resultate bekräftigen, welche von Jakobitz über die Wirkung des Lichtes erhalten wurden.

Was dann den Ort und das Wesen des desinfizierenden Vermögens angeht, so habe ich mich überzeugen können, daß es seinen Sitz in den Verbindungsmitteln hat, wie schon Jakobitz sagte, das heißt in den gebrauchten vertrocknenden Oelen -- nämlich Leinöl. Ich habe auch wirklich konstatiert, daß wenn ich infizierte Gläsern teils mit Leinöl, teils mit flüssigem Firnis ziemlich in Berührung brachte, die Bakterien, welche den Effluvien, (um sie so zu nennen) des gekochten reinen Leinöls ausgesetzt waren, rascher starben als jene, welche den Ausdünstungen des Firnis ausgesetzt waren.

Deswegen müßte man zugeben, daß die anderen Stoffe, aus welchen der Firnis bereitet wird, gewissermaßen in hemmender Weise die bakterientötende Tätigkeit ihres Verbindungsmittels beeinflussen.

		Zoncafarbe			Ricimperfarbe		
		auf angestrichenen Platten	auf Anstrichhäutchen	auf Glas, Kontrollprobe	auf angestrichenen Platten	auf Anstrichhäutchen	auf Glas, Kontrollprobe
		absterben innerhalb			absterben innerhalb		
bei mattem Licht und Feuchtigkeitsgehalt mitl. 55 Proz.	Pestbacillus	7—10 St.	7—10 St.	48—85 St.	7—10 St.	3—7 St.	48—72 St.
	Cholera vibrio	3—4 "	3—4 "	16—24 "	3—4 "	2—3 "	16—24 "
	Staph. p. aureus	10—22 "	29—34 "	4—12 Tg.	22—29 "	29—34 "	6—12 Tg.
	Typhusbacillus	10—12 "	12—14 "	26—31 St.	5—10 "	5—10 "	26—31 St.
	Bacterium coli	5—10 "	5—10 "	34—48 "	5—10 "	10—15 "	34—48 "
Im Dunkeln von Feuchtigkeit gesättigt	Pestbacillus	44—56 St.	54—56 St.	5—6 Tg.	56—80 St.	44—56 St.	5—6 Tg.
	Cholera vibrio	6—12 "	6—12 "	25—33 St.	4—6 "	6—12 "	25—33 St.
	Staph. p. aureus	48—72 "	48—72 "	25—33 Tg.	48—72 "	48—72 "	25—33 Tg.
	Typhusbacillus	33—46 "	46—56 "	88—100 St.	22—34 "	22—34 "	88—100 St.
	Bacterium coli	36—46 "	22—34 "	56—70 "	22—34 "	12—22 "	56—70 "

Zweiter Teil.

Um den Wert und die Dauer des desinfizierenden Vermögens zusammengenommen zu untersuchen, habe ich mit Firnissen gearbeitet, welche auf die Wände des Laboratoriums gestrichen waren. Sie waren auf verschiedenen Wänden von Räumen angewendet, die in demselben Stock gelegen und miteinander durch weite Oeffnungen verbunden sind; oben waren die Mauern mit Kalkmilch geweißt. Ich habe für meine

Versuche benachbarte Wände gewählt, welche in gleicher Weise dem Licht ausgesetzt waren.

Einen indirekten, wenn auch nicht genauen Beweis der bakteriziden Wirkung der Firnisse konnte man aus der größeren oder kleineren Zahl der Keime erhalten, welche lebend darauf gefunden wurden; und wenn man nach verschiedenen Zeiten den bakterischen Inhalt bestimmte, konnte man in allgemeiner Beziehung folgern, ob die genannte Wirkung sich erhielt, sich schwächte oder mit dem Alter verschwand.

Damit habe ich die Menge der entwickelungsfähigen Bakterien bestimmt, welche 1, 3, 9, 12 Monate nach ihrer Anwendung existierten.

Zu diesem Zweck habe ich mich der von Esmarch angewendeten Methode bedient, um die Keime der Wände zu studieren, das sind kleine Würfel feinen Schwammes, welche sterilisiert und leicht angefeuchtet waren oder auch kleine Kugeln dichter feuchter Watte, welche auch sterilisiert waren.

Diese hielt ich mit sterilen Zangen, bestrich damit sorgfältig 3 Quadrate von 10 qcm einer jeden Wand, welche ich in Untersuchung zog. Die Quadrate waren an verschiedenen Punkten ausgewählt, und aus den Resultaten machte ich eine Mittelzahl im Verhältnis zu 1 Quadrat von 10 qcm. Als Ende des Vergleiches bestimmte ich gleichzeitig mit derselben Methode den bakterischen Inhalt einer gleichen Oberfläche der mit Kalkmilch geweißten Wand.

Ich habe mich im allgemeinen darauf beschränkt, einen einzigen Schwamm für ein kleines Quadrat anzuwenden, da mir die Erfahrung gezeigt hat, es sei einer genügend, um alle enthaltenen Keime zu entfernen.

Ich mußte 2 und auch 3 anwenden, um dasselbe Resultat zu erhalten, wenn ich auf den geweißten Wänden arbeitete.

Nachdem das Abwischen beendet war, tauchte ich die Schwämme in ungefähr 1 ccm sterilisierten Wassers, welches in einer Petri-Schale enthalten war, wo sie mehrere Male mit einer starken Platinnadel gepreßt und fortgewälzt wurden, um die Trennung des entfernten Materials zu erleichtern. Dann goß ich gelöste Gelatine zu 38° in die Schale und machte eine Plattenkultur. Auf diese Weise erhielt ich fast immer eine ausgezeichnete Trennung der einzelnen Kolonien, welche sich entwickelten. Ich berechnete die Kolonien, wenn es mir möglich war, bis zum 8. oder 10. Tage. Jedoch schon am 3. Tage machten verflüssigende Bakterien oder Schimmelpilze eine weitere Verschiebung unmöglich.

In dem Staub der Wände habe ich absolut keine pathogenen Keime gefunden. Ich habe isoliert: den *Aspergillus niger* oder den *A. fumigatus*, verschiedene *Torula*-Arten, teils Chromogenbakterien, öfters den *Bacillus subtilis*, einige nicht pathogene *Coccus*- und *Proteus*-Arten. Ich bemerke, daß ich immer, auch auf Agarplatten, Kulturen gemacht habe, um eine Temperatur von 37° für das Aufsuchen der pathogenen Keime benutzen zu können.

Ich stelle in den folgenden Tabellen die Resultate zusammen.

Für den direkten Beweis der Dauer des desinfizierenden Vermögens habe ich dieselben gefirnisten Wandquadrate benutzt, welche bei der Untersuchung des bakterischen Inhalts gedient haben und der angrenzenden Teile, da ich eine größere Fläche brauchte. Ich sterilisierte die Oberflächen durch sorgfältiges Waschen in gekochtem Wasser und durch Abreiben mit hydrophiler gekochter Watte. Ich versicherte mich ihrer

		Bakteriengehalt auf den angestrichenen Wänden									
		von 1 Monat 1. Juni 1901					von 3 Monaten 5. August 1901				
		Untersuchte Oberflächen	Schimmel- pilze	Bakterien		Untersuchte Oberflächen	Schimmel- pilze	Bakterien		Gesamtzahl	
				ver- flüssigt	nicht ver- flüssigt			ver- flüssigt	nicht ver- flüssigt		
Mit Mörtel beworfen	Mit Zoncafarbe angestrichen	10 ccm	1	0	1	2	10 ccm	3	2	9	14
	„ Ricimperfarbe „	10 „	1	0	0	1	10 „	10	0	5	13
	„ Galvaneidefarbe „	10 „	0	2	2	4	10 „	8	4	7	19
	an den Grenzen des Zonca- anstriches	10 „	15	10	3	28	10 „	20	8	0	28
	an den Grenzen des Ricimper- anstriches	10 „	13	8	12	33	10 „	4	12	6	16
	an den Grenzen des Galva- neideanstriches	10 „	18	4	5	27	10 „	17	2	7	26
		von 6 Monaten 10. November 1901					von 9 Monaten 8. Februar 1902				
Mit Mörtel beworfen	Mit Zoncafarbe angestrichen	10 ccm	7	0	4	11	10 ccm	2	3	9	14
	„ Ricimperfarbe „	10 „	11	0	2	13	10 „	14	0	1	15
	„ Galvaneidefarbe „	10 „	5	4	6	15	10 „	4	0	15	19
	an den Grenzen des Zonca- anstriches	10 „	14	3	9	26	10 „	10	15	4	29
	an den Grenzen des Ricimper- anstriches	10 „	10	7	5	22	10 „	5	2	2	7
	an den Grenzen des Galva- neideanstriches	10 „	18	10	7	35	10 „	10	0	8	26

Sterilität durch Abreiben mit sterilen Schwämmen, welche in Bouillon gelegt und bis zu 37° gebracht wurden. Wenn ich nach 24—48 Stunden in der Bouillon keine Entwicklung fand, infizierte ich genannte Oberflächen, welche in Quadrate geteilt waren, mit 24-stündigen Bouillonkulturen, in der Weise, wie ich schon angegeben habe, als von den gefirnisten Platten die Rede war.

Zur Kontrolle infizierte ich gleichzeitig den Boden von sterilen Petri-Schalen. Ich habe niemals die Kontrolle unterlassen, da mir der Vergleich zwischen dem Widerstande der Keime auf 2 verschiedenen Substraten mehr Beweis zu liefern schien, als die absolute Lebensdauer auf einem einzigen Material, da wir wissen, daß es große Unterschiede im Lebensvermögen bei verschiedenen Kulturen von demselben Mikroorganismus gibt. Ich habe den Typhus- und Pestbacillus, den Cholera-vibrio, den Staphylococcus p. aureus untersucht. Nach einigen Stunden riech ich, wie aus den Tabellen hervorgeht, mit einem sterilen Schwämmchen einen kleinen Teil der infizierten Oberflächen ab. Das Schwämmchen legte ich in Bouillon und setzte diese einer Temperatur von 37° aus. 8—10 Tage nach der Impfung entwickelten sich die Keime. Diese Versuche führte ich aus, sofort nachdem ich jene für den bakterischen Inhalt beendet hatte, nämlich zuerst nach 1 Monat und etlichen Tagen, dann nach 3, 6, 9 Monaten nach der Ausbreitung der Firnisse auf die Wände. Für die Zusammenstellung ordnete ich die beiden Versuche in chronologischer Weise.

Aus den in den Tabellen aufgeführten Ergebnissen schließt man, daß das desinfizierende Vermögen der untersuchten Firnisse nach einem Monat ihrer Anwendung ungefähr um die Hälfte abgenommen hat.

	Von 1 Monat angestrichene Wände 5. Juni 1901				Von 3 Monaten angestrichene Wände 17. August 1901			
	mit Zonca- farbe	mit Ricimper- farbe	mit Galva- neidefarbe	Kontroll- probe auf Glas	mit Zonca- farbe	mit Ricimper- farbe	mit Gal- vaneide- farbe	Kontroll- probe auf Glas
	absterben innerhalb				absterben innerhalb			
Typhusbacillus	24—48 St.	12—24 St.	24— 48 St.	55— 78 St.	30—34 St.	28—30 St.	30—34 St.	34— 64 St.
Pestbacillus	7—18 „	7—18 „	24— 30 „	72—144 „	48—70 „	24—48 „	70—84 „	84—120 „
Cholera vibrio	3— 4 „	4— 6 „	7— 18 „	16— 26 „	8—12 „	12—14 „	14—30 „	14— 30 „
Staphylococcus p. aureus	20—30 „	30—48 „	72—120 „	9— 12 Tg.	4—5 Tg.	4— 5Tg.	4— 5Tg.	9— 11 Tg.
	Von 6 Monaten angestrichene Wände 12. November 1901				Von 9 Monaten angestrichene Wände 12. Februar 1902			
Typhusbacillus	33—48 St.	35—48 St.	48— 65 St.	28— 63 St.	30—40 St.	24— 30 St.	24—30 St.	30— 40 St.
Pestbacillus					18—72 „	30—48 „	48—72 „	48— 72 „
Cholera vibrio					9—11 „	6— 9 „	9—11 „	6— 9 „
Staphylococcus p. aureus					6—8 Tg.	8—10Tg.	12—14Tg.	10— 12 Tg.

Von 12 Monaten 20. Mai 1902				
	mit Zonca- farbe	mit Ricimper- farbe	mit Galvaneide- farbe	Kontroll- probe auf Glas
	absterben innerhalb			
Typhusbacillus	28—40 St.	20—28 St.	20—28 St.	28—40 St.
Pestbacillus	40—60 „	40—60 „	40—60 „	60—70 „
Cholera vibrio	6—10 „	6—10 „	10—12 „	10—12 „
Staphylococcus p. aureus	5—8 Tg.	4—5 Tg.	5—8 Tg.	8—9 Tg.

Was den bakterischen Inhalt betrifft, so halten sich die gefirnisten Wände 10—15 Tage steril. Diese Wahrnehmung machte ich auch auf Wänden, welche in ziemlich besuchten Teilen der Laboratoriums liegen und so einem starken Staub ausgesetzt waren. Nach 1 Monat konnte man schon Keime finden, wengleich in sehr kleiner Menge. Zuerst erscheinen fast immer Schimmelpilze.

In der Folge geht die Vermehrung des bakterischen Inhalts Hand in Hand mit der Verminderung des desinfizierenden Vermögens. Ich hatte Gelegenheit, wahrzunehmen, daß dieses Resultat sich mit der Tatsache der wachsenden Anhäufung des Staubes und somit der Bakterien erklärte. Aber an den genannten Oberflächen, welche glatt und glänzend sind, kann der Staub wenig hängen bleiben; und was für die pathogenen Keime gilt, muß auch für die Saprophyten gelten. Solange das desinfizierende Vermögen dauert, sterben auch die Saprophyten, welche durch Zufall mit den angestrichenen Oberflächen in Berührung kommen. Sie bleiben am Leben, wenn dieses Vermögen verringert wird oder verschwindet.

In der Tat habe ich, wie oben gesagt, immer gefunden, daß in 10—15 Tagen nach ihrer Anwendung die Firnisse in der Untersuchung noch nicht vollständig trocken waren, auch wenn sie in ziemlich besuchten Lokalitäten angewendet waren (Wänden von Treppen).

Einen annähernden Fingerzeig für das Ende des selbstdesinfizierenden Vermögens haben wir in den Kontrollproben, welche auf Glas gemacht worden sind.

Ich habe mit Vorliebe dieses Material gewählt, weil es ein indifferenten Körper ist, und wie man weiß, Eigenschaften besitzt, welche sich sehr jenen der untersuchten Firnisse nähern. Abgesehen von der Dauer, besitzt es im allgemeinen Undurchdringlichkeit, eine glatte Oberfläche, wodurch wir, wenn die auf dem Glase und dem Firnis enthaltenen Resultate fast gleich sind, schließen müssen, daß eine chemische Wirkung nicht mehr stattfindet, und daß für die Erhaltung und den Tod der Keime die physischen Bedingungen von Bedeutung sind, nämlich die Feuchtigkeit, das Licht, die Vertrocknung. Nun sehen wir, daß eine solche Gleichartigkeit des Zusammentreffens sich schon 10 Monate nach ihrer Anwendung zeigt.

Man kann von einer desinfizierenden Wirkung nach 3, nicht mehr nach 6 und noch viel weniger nach 9 und 12 Monaten sprechen.

In der Tat haben weitere Versuche, welche ich der Kürze wegen nicht niederschreiben will, kleine Differenzen von jenen gegeben, welche nach 9 und 12 Monaten ausgeführt worden sind.

Auf den Resultaten fußend, welche ich in den vorausgehenden Versuchen erhielt, habe ich den Einfluß zu bestimmen gesucht, welchen die Feuchtigkeit der Wände, auf welche die Firnisse angewendet sind, auf die Keime haben kann. Eine Wand des Laboratoriums diente mir zu diesem Zwecke. Sie war feucht und trotz der Anwendung von galvanoidischem Firnis merkte man doch an verschiedenen Punkten rauhe Erhöhungen, von welchen sich bei einigen der Firnis losgelöst hatte.

Es wurden 2 Quadrate von 10 qcm ausgewählt; das erste auf einer der schon genannten Erhöhungen, wo jedoch der Zusammenhang der Oberfläche nicht verletzt war, das zweite auf der trockenen Wand, welche mit jener feuchten in Verbindung stand; beide waren demselben Licht ausgesetzt. So begann ich den bakterischen Inhalt zu untersuchen.

Ich fand bei verschiedenen Untersuchungen eine beträchtlich größere Anzahl in der feuchten Wand, nämlich

6 Kolonien, welche sich entwickelten auf der trockenen Wand,

30 Kolonien, welche sich entwickelten auf der feuchten Wand.

Der größere Teil von diesen waren Schimmelpilze, nur einige verflüssigende Bakterien und wenige *Sarcina*-Arten, während jene zum größten Teil von verflüssigenden und nur einige von Schimmelpilzen präsentiert waren. Indem ich dann auf denselben beiden Quadraten den Widerstand der zwei pathogenen Keime, des Kochschen *Vibrio* und des *Typhusbacillus* untersuchte, fand ich, daß sie sich in dem Quadrat der feuchten Wand fast die doppelte Zeit am Leben erhielten, als sie auf dem Quadrat der trockenen Wand Widerstand leisteten.

Diese Erfolge scheinen zu beweisen, daß die Feuchtigkeit des Mittels, auf welchem der Firnis angewendet ist — wenn derselbe auch undurchdringlich ist — einen günstigen Einfluß auf die Erhaltung der Keime hat. Ich kann die Wirkung nicht genau definieren, welche sich in diesen Bedingungen entwickelt, vielleicht wird die Austrocknung der freien Oberfläche gehindert werden, welche einen großen Einfluß auf die Lebensbedingung der Keime haben muß, oder es werden osmotische Prozesse stattfinden.

Ich schließe also: Kann die bakterizide Eigenschaft eines gewissen Firnisses einen großen, praktischen Nutzen haben? Müssen wir alle

3—6 Monate den Anstrich der Spitalsäle u. s. w. erneuern, um den Vorteil der Desinfektion zu erhalten? Ich halte von jedem Gesichtspunkte aus die künstliche Desinfektion für geeigneter. Bei dieser Gelegenheit muß ich berichten, daß die geprüften Firnisse nicht nur eine sehr glatte, widerstandsfähige, undurchdringliche, ja klassische Oberfläche besitzen, welche nicht die geringste Veränderung in ihrem Zusammenhang zeigt, sondern daß auch die beiden Firnisse Ricimper und Zonca sehr gut allen Desinfektionsmitteln, welche in der Praxis gebraucht werden, Widerstand leisten. Ich habe auf sie stark konzentrierte Karbol- und eine 25-proz. Schwefelsäure, eine 40-proz. Formalinlösung wirken und sie länger kochen lassen und mit flüssigem und unter Druck stehendem Dampf untersucht. Den chemischen Mitteln haben sie Widerstand geleistet, bei strömendem Dampf haben sie sich leicht an der Oberfläche getrübt, unter dem Druck von $\frac{1}{2}$ effektiver Atmosphäre haben sie sich geändert. Der trockenen Wärme widerstand die Zonca bis 130°, die Ricimper bis 140°. Den basischen Lösungen, sowie denen mit Soda und Pottasche, leisteten sie nur wenig Widerstand. Wenn wir ferner in Zimmern, welche teilweise mit genannten Firnissen, teilweise mit Kalkfarbe angestrichen sind, die Desinfektion mit Formaldehyden versuchen (kombinierter Apparat Aeskulap), so erhalten wir eine vollständige Desinfektion auf den mit Firnis, aber nicht auf den mit Kalk überstrichenen Oberflächen. Von den Keimen, welche auf den beiden Anstrichen künstlicherweise ausgebreitet worden waren, konnte ich nach der Wirkung der Formaldehyde keine finden, welche noch der Entwicklung fähig gewesen wären, während ich solche auf dem Kalk wie auf dem Fußboden fand. Ich glaube daher, daß man in dem Wandfirnis in besonderer Weise die Unveränderlichkeit der Glätte und Ununterbrochenheit suchen muß, um für mehrere Jahre, wenn es möglich sein sollte, eine künstliche Desinfektion einwirken zu lassen.

So glaube ich folgendermaßen schließen zu können:

Gewisse Wandfirnisse haben eine bakterizide Wirkung auf Keime, welche mit ihnen in Berührung kommen, durch die gasigen Produkte, welche sich aus den Oelen entwickeln, die sie zusammensetzen.

Diese Wirkung, welche sofort nach der Anwendung stark ist, verringert sich allmählich bis zum Verschwinden, wenn der Firnis vollständig vertrocknet ist; in meinen Versuchen nach 3—6 Monaten.

Daß, abgesehen von der chemischen Wirkung, die Leichtigkeit der Vertrocknung wegen der glänzend-glaten und undurchdringlichen Oberfläche sie wenig geeignet macht, die Keime am Leben zu erhalten.

Daß die Feuchtigkeit die desinfizierende Wirkung verringert, welche nicht vom Licht beeinflußt scheint, wenigstens für die Keime, mit welchen ich die Versuche gemacht habe.

Daß in der Praxis mehr die Solidität und die Unveränderlichkeit aller physischen Eigenschaften des Firnisses zu suchen ist, als ihr desinfizierendes Vermögen.

Als diese Arbeit, welche durch Gründe, die von meinem Willen unabhängig waren, mehrere Monate in die Länge gezogen wurde, erschien über diese Frage eine andere Arbeit von Jakobitz (Hyg. Rundschau, 15. Juni 1903).

Der Verfasser macht den Schluß, daß das desinfizierende Vermögen der von ihm untersuchten Firnisse 1 Jahr nach ihrer Anwendung noch

beträchtlich ist und fast jenem gleichkommt, welches er nach 6 Monaten gefunden hatte.

Dieser Schluß ist, wenigstens dem Anscheine nach, nicht dem entsprechend, was ich beobachtet habe. Ich sage dem Scheine nach, weil die Nichtübereinstimmung in der Interpretation ihren Sitz hat, während die experimentellen Resultate, welche Jakobitz erhalten hat, nur wenig von den meinigen verschieden sind.

Jakobitz, welcher Platten von poröser Tonerde verwendet hat — die physischen Bedingungen waren also anders als bei den gefirnissten Oberflächen — hat gefunden, daß die Keime auf dem Untersuchungsmaterial sehr lange lebten; ich dagegen habe zur Untersuchung Glas verwendet, welches mit den Firnissen die glatte, undurchdringliche Oberfläche besitzt und habe gefunden, daß die Keime fast in gleicher Weise auf dem einen wie auf dem anderen Material Widerstand leisteten.

Wahrscheinlich wäre er, wenn er ein glattes und undurchdringliches Material angewendet hätte, zu verschiedenen Schlüssen gekommen.

Nachdruck verboten.

Eine Modifikation des Rothberger-Schefflerschen Neutralrot-nährbodens.

[Aus dem hygienischen Institute der kais. Universität Jurjew (Dorpat),
Direktor: Prof. Dr. G. Chlopin.]

Von **A. Oldekop.**

Unter der großen Anzahl differentialdiagnostischer Merkmale zwischen dem Typhusbacillus und dem *Bacterium coli commune* verdient zweifelsohne an erster Stelle genannt zu werden die von Rothberger im Jahre 1899 entdeckte Reaktion des *Bacterium coli* auf Neutralrot¹⁾, sowohl wegen der Promptheit und Prägnanz, mit welcher diese Reaktion einzutreten pflegt, wie auch wegen des Umstandes, daß sie, mit Ausnahme des Typhusbacillus, der ganzen Coli-Gruppe im weiteren Sinne, resp. den Uebergangsformen zwischen dieser und dem Typhusbacillus²⁾, soweit die Beobachtungen reichen, eigentümlich ist — ein Umstand, welcher ihr den Vorzug vor vielen anderen, im übrigen guten Differenzierungsmethoden gibt. Was die Ausführung der Neutralrotprobe betrifft, so empfiehlt Rothberger die Anwendung von Schüttelkulturen. Die Herstellung der letzteren nach der Rothbergerschen Vorschrift ist jedoch, wie Scheffler³⁾ zutreffend bemerkt, „umständlich und zeitraubend“, namentlich wenn es sich etwa darum handeln sollte, eine größere Anzahl von isolierten Stämmen auf die Neutralrotreaktion hin zu prüfen. Scheffler hat darum die Schüttelkulturen durch Stichkulturen zu ersetzen versucht, wobei sich jedoch herausstellte, daß bei der Anwendung von Stichkulturen in gewöhnlichem Agar (Verf. verwandte Glycerinagar), wohl infolge der geringeren Impfmenge, die Reaktion erst nach „2, 3 Tagen“ ihren Höhepunkt erreichte.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. No. 14. p. 513.

2) Kayser, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. No. 9. p. 427.

3) Scheffler, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. p. 199.

Scheffler versucht nun, den Eintritt der Reaktion zu beschleunigen, und zwar durch Hinzufügen von Traubenzucker zum Nährboden und genaue Präzisierung des zweckmäßigsten Farbstoffzusatzes. Als Ergebnis seiner Versuche führt er an, daß bei einem Zusatz von 0,3 Proz. Glykose und 1 ccm konzentrierter Farbstofflösung zu 100 ccm Nähragar es „in den meisten Fällen“ schon 24 Stunden nach der Impfung gelinge, eine deutliche Fluoreszenz zu erzielen, wobei die Menge des Impfmateri- als nicht von wesentlicher Bedeutung sei.

Bei der Nachprüfung der Schefflerschen Methode gelang es mir jedoch, wenn ich zu den Versuchen einen (frisch hergestellten) Nährboden mit 1 $\frac{1}{2}$ Proz. Agargehalt benutzte und die Menge des Impfstoffes gering war, resp. wenn letzterer mit der Platinnadel einer Bouillonkultur entnommen wurde, nie, das Eintreten der Farbenveränderung nach 24 Stunden zu beobachten. Gewöhnlich zeigte sich die Farbenveränderung erst nach 36—48 Stunden oder noch später. Auch beim Ueberimpfen größerer Bakterienmengen, wenn das Material z. B. von einer Strichkultur genommen wurde, war die Reaktion nur in wenigen Fällen nach 24 Stunden zu konstatieren. Meist erschien sie auch hier erst am 2. Tage nach der Beschickung.

Da in vielen Fällen wohl ein zeitigeres Erscheinen der Reaktion wünschenswert sein dürfte, so sei hiermit eine von mir während der Bearbeitung des Preisthemas der Jurjewschen (Dorpatischen) Universität für 1902: Дифференциальная диагностика между *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacillus coli communis* (Differentialdiagnose zwischen dem *Bacillus typhi abdominalis* und dem *Bacillus coli communis*) gemachte Beobachtung mitgeteilt, welche mich veranlaßte, einen Nährboden herzustellen, der das Erscheinen der Reaktion spätestens nach 12 Stunden ermöglichte. Bei der Untersuchung der Neutralrotreaktion nach der Schefflerschen Vorschrift fand ich nämlich, als ich einmal zur Ausführung der Probe einen Nähragar benutzte, der infolge häufigen Aufkochens eine halbflüssige Konsistenz angenommen hatte, daß die charakteristische Farbenveränderung bei einigen Coli-Stämmen schon nach 12, bei anderen nach 20 Stunden zu konstatieren war. Als jedoch zu demselben Nähragar noch 1 Proz. Agar hinzugefügt und einer von den untersuchten Stämmen wieder der Neutralrotprobe unterworfen wurde, zeigte sich die Reaktion am 3. Tage nach der Impfung (nach 67 Stunden). Da in beiden Fällen die Nährböden sich nur durch ihren Agargehalt resp. ihre Konsistenz voneinander unterschieden, so entstand die Frage, ob nicht eben der letztere die Verzögerung der Reaktion bei der zweiten Untersuchung verursacht hatte. Die Untersuchung dieser Frage erwies in der Tat, daß, je geringer (bis zu einer gewissen Grenze) der Agargehalt des Nährbodens, um so früher die Reaktion erscheint. Zur Illustration sei hier ein Versuch angeführt.

Gewöhnliche schwach alkalische Bouillon (1 l Aqua dest. + 10 g Liebig's Fleischextrakt + 10 g Pepton + 5 g NaCl) zu 100 ccm in 2 Kölbchen gegossen, wurde mit je 0,5 g (0,5 Proz.) und 2 g (2 Proz.) Agar versetzt und behufs Lösung des letzteren 2 Stunden im Kochschen Dampftöpfe gekocht. Die erhaltenen Nähragare wurden im strömenden Dampfe gleichlange (1 $\frac{1}{2}$ Stunden) filtriert, mit 1 ccm gesättigter Neutralrotlösung und 0,3 Proz. Traubenzucker vermischt, zu 5 ccm in Reagenzröhrchen gegossen und während 1 Stunde sterilisiert. In die solcherart hergestellten Nährböden wurden 5 typische Coli-

Stämme — 2 Laboratoriumsstämme (C_I und C_{IV}) und 3 von mir aus den Faeces verschiedener Personen isolierte (C_{II}, C_{III} und C_V) — verimpft. Um eine möglichst gleichmäßige Dosierung der Impfmenge zu erzielen, wurden zur Impfung 14-stündige Bouillonkulturen der genannten Stämme benutzt. Die Impfung geschah vermitteltst einer Platinnadel, die bis zum Boden des Röhrchens ins Impfmateriale getaucht und dann in den Neutralrotnährboden gestochen wurde. Die mit Impfmateriale beschickten Röhrchen wurden hierauf in den Thermostaten bei 37° gestellt. Das Resultat des Versuches gebe ich in Form einer Tabelle wieder, wobei ich mich folgender Zeichen bediene: C_I—C_V ist die Bezeichnung für die 5 untersuchten Stämme, C^{0,5} bedeutet eine Stichkultur eines der Stämme im 0,5-proz., C^{2,0} eine solche im 2-proz. Neutralrotagar.

10 Stunden nach der Impfung	24 Stunden nach der Impfung	54 Stunden nach der Impfung	
C _I ^{0,5} Spur. v. Fluor. (zweifelhaft)	C _{II} ^{0,5} } Vollständige Entfärbung (bis auf einen kleinen, mehr oder weniger breit.Saum) und prachtvolle Fluoreszenz C _{III} ^{0,5} } C _{IV} ^{0,5} } C _V ^{0,5} } schöne Fluoreszenz, jedoch schwache Aufhellung C _{IV} ^{0,5} }	C _{III} ^{0,5} } C _{II} ^{0,5} } Wie nach 24 Stunden C _I ^{0,5} }	
C _{II} ^{0,5} } C _{III} ^{0,5} } C _{IV} ^{0,5} } C _V ^{0,5} } unverändert		C _V ^{0,5} } C _{IV} ^{0,5} } C _I ^{2,0} } C _{II} ^{2,0} } C _{III} ^{2,0} } C _{IV} ^{2,0} } C _V ^{2,0} } unverändert	C _V ^{0,5} } fast vollständige Entfärbung u. schöne Fluoreszenz C _{IV} ^{0,5} }
C _I ^{2,0} } C _{II} ^{2,0} } C _{III} ^{2,0} } C _{IV} ^{2,0} } C _V ^{2,0} }			C _I ^{2,0} } schöne Fluoreszenz und starke Aufhellung, letztere jedoch schwächer als bei C _{IV} und C _V
			C _{II} ^{2,0} } deutl. Fluoreszenz, Aufhellg. schwach
			C _{III} ^{2,0} } Beginn d. Fluoreszenz
	C _{IV} ^{2,0} } Fluoreszenz in Spuren C _V ^{2,0} }		

NB. Die Reihenfolge (von oben nach unten) der einzelnen Kulturen entspricht der Intensität der bei ihnen beobachteten Reaktion.

Wie aus dem Versuche ersichtlich, war die Reaktion im 5-proz. Nähragar bei allen Stämmen nach 24 Stunden vollständig eingetreten, während im 2-proz. nach derselben Zeit bei keinem Stamme auch nur die Spuren einer Reaktion zu bemerken waren. Wir konstatierten das Erscheinen der Reaktion im 2-proz. Nähragar bei allen Stämmen erst nach 54 Stunden: Bei einigen Stämmen zeigten sich nach dieser Zeitspanne gerade die ersten Spuren der Reaktion. Interessant ist ferner der Umstand, daß der Agargehalt die Gasbildung in dem zuckerhaltigen Nährboden — im Gegensatze zur Neutralrotreaktion — gar nicht zu beeinflussen scheint, da in allen Röhrchen sowohl mit 0,5-proz. wie auch mit 2-proz. Agar nach 10 Stunden in gleichem Maße Gasbläschen zu konstatieren waren. Weitere in derselben Richtung gemachte Versuche bestätigten vollkommen die eben angeführten Resultate.

Es fragt sich nun ferner: 1) welcher Agargehalt das Optimum in

Bezug auf das Erscheinen der Farbenveränderung vorstellt und 2) ob durch eine Aenderung der übrigen Bestandteile des Neutralrotnährbodens das Eintreten der Reaktion gleichfalls beschleunigt werden kann.

Die Untersuchung dieser Frage führte zu folgenden Ergebnissen:

Ein Nährboden ganz ohne Agar, also reine Neutralrotbouillon, eignet sich für die Neutralrotprobe wenig, wie es Rothberger schon hervorhebt; denn bei Zuckersatz (0,3 Proz.) zeigte sich in solcher Bouillon eine dunkelgrüne Fluoreszenz schon nach 12—20 Stunden, jedoch verlor sich dieselbe sehr bald (häufig schon nach 24 Stunden) vollständig, ohne daß es zu einer merklichen Aufhellung des Nährbodens gekommen wäre; in zuckerfreier Bouillon hingegen ließ die Reaktion häufig lange auf sich warten und trat wenig prägnant auf: die dunkelrote Farbe des Nährbodens hellte sich bis zu einem Lichtbraun auf, wobei die charakteristische Fluoreszenz sehr schwach war.

Am günstigsten sowohl in Bezug auf die Zeit wie auch die Prägnanz der charakteristischen Farbenveränderung erwies sich ein Nährboden mit 0,3 Proz. Agargehalt und 0,15 Proz. Zucker- und 2 Proz. Peptonzusatz. In einem solchen Nährboden, welcher eine Konsistenz zeigt, die gerade noch das Umkippen eines Röhrchens mit horizontal erstarrtem Nährboden gestattet, ohne dabei gleich zu zerfließen, zeigten alle von mir untersuchten Coli-Stämme schon nach 12 Stunden bei einer Temperatur zwischen 37 und 38° C deutlich die charakteristische Farbenveränderung, die je nach den individuellen Eigenschaften der untersuchten Stämme zwischen vollständiger Entfärbung des ganzen Röhrcheninhaltes mit schöner Fluoreszenz und Fluoreszenz nur im Bereiche des Impfstiches schwankte. Stämme, die nach 12 Stunden den Nährboden vollständig entfärbten, zeigten deutliche Fluoreszenz längs des Impfstiches schon nach 6 Stunden. Verringerte oder vergrößerte man den Zucker- und Peptonzusatz des Nährbodens (wie 0,1 Proz. oder 0,3 Proz. Zucker und 1 Proz. oder 3 Proz. Pepton), so zeigte sich die Reaktion entweder weniger eklatant oder später. Noch viel ungünstiger erwiesen sich Nährböden ganz ohne Zucker mit 1 Proz. und 2 Proz. Pepton. Einige Coli-Stämme riefen in solchen Neutralrotnährböden überhaupt keine ordentliche Reaktion hervor. Was die Herstellung und Beschickung des Nährbodens betrifft, so wurde sie folgendermaßen ausgeführt.

In 500 ccm Aq. dest. werden 5 g Liebig's Fleischextrakt, 2,5 g NaCl und 10 g Pepton. sicc. Witte gelöst. Die Lösung wird mit Sodalösung bis zu einer schwach alkalischen Reaktion versetzt, 1 Stunde gekocht und filtriert. Zu 100 oder 200 ccm von dem Filtrate, dessen Reaktion nochmals geprüft wird, werden 0,3 Proz. Stangenagar hinzugefügt und durch 1-stündiges Kochen im Dampftopfe gelöst. Die Lösung wird heiß filtriert (infolge des geringen Agargehaltes geht die ganze Masse binnen weniger Minuten mit derselben Leichtigkeit wie Bouillon durch das Filter), mit 1 resp. 2 ccm konzentrierter Neutralrotlösung und 0,15 Proz. Glykose vermischt, zu 5 ccm in Reagenzröhrchen gegossen und 1½—2 Stunden im Dampftopfe sterilisiert. Der einmal fertiggestellte Nährboden kann längere Zeit — bis zu völliger Austrocknung — ohne Beeinträchtigung der Reaktion aufbewahrt werden. Es scheint sogar, daß durch längeres Stehen die Vorzüge des Nährbodens gesteigert werden: In solchen älteren Nährböden zeigte sich bei meinen Versuchen die Reaktion in der Regel eklatanter, als in frischen.

Als Impfmateriel benutzte ich 24—48-stündige Bouillonkulturen. Die Impfung geschah vermittelst einer Platinnadel, wie oben beschrieben.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. D. V. Chlopin meinen verbindlichsten Dank für die Anleitung und die wertvollen Ratschläge, die ich während meiner Arbeit genossen habe, hiermit ausdrücken zu können.

Nachdruck verboten.

Einige Laboratoriumsapparate.

[Aus dem hygienischen Laboratorium der Universität von Michigan, Ann Arbor, Mich., U. S. A.]

Von Prof. Dr. F. G. Novy.

Mit 3 Figuren.

Ein verbesserter Thermoregulator.

Im Jahre 1898 habe ich in diesem Centralblatt (Bd. XXIII. p. 1054) einen neuen Thermoregulator beschrieben, der gewisse ausgesprochene Vorzüge gegenüber dem gewöhnlichen Reichertschen Apparate aufwies. Er war nicht nur solide gebaut, sondern zeichnete sich auch noch besonders durch eine einfache Vorrichtung zum Regulieren des Erhaltungsflämmchens. In der ursprünglichen Form war dieser Regulator, gleich dem Reichertschen, mit einer cylindrischen Erweiterung versehen, die mit Quecksilber gefüllt war. Infolge der geringen zur Anwendung kommenden Menge Quecksilber ist die Ausdehnung nicht so schnell und ausgesprochen und das Instrument daher nicht so empfindlich, als es wohl wünschenswert wäre. Um diese Schwierigkeit zu beseitigen und um einen Regulator von höchster Leistungsfähigkeit zu erhalten, wurde der untere Teil des Instrumentes so verändert, wie nebenstehende Zeichnung angibt (Fig. 1).

Wie Fig. 1 zeigt, ist die Kapillarröhre verlängert, so daß sie beinahe den Boden des Glaszylinders (*E*) berührt. Der untere Teil dieser Röhre ist mit einer kleinen Erweiterung versehen, um die Luft zu hindern, in den Cylinder einzutreten, wenn etwa der Regulator abgenommen ist. Quecksilber füllt die Kapillarröhre und bedeckt den Boden des Cylinders in einer Tiefe von 1,5 cm.

Der Cylinder wird gewöhnlich mit reinem absoluten Alkohol gefüllt; in besonderen Fällen, wo außerordentliche Empfindlichkeit beim Regulieren niederer Temperaturen erforderlich ist, kann er mit reinem Aether gefüllt werden. In jedem Falle wird jedoch infolge der großen Flüssigkeitsmenge die lineare Expansion, die durch die Zunahme eines Bruchteils von einem Grade in der umgebenden Temperatur verursacht wird, derartig markiert werden, daß man sofort den Hauptvorrat von Gas abschließen kann.

Der bequemste Weg, um den Regulator für eine gegebene Temperatur einzustellen, ist unstreitig die übliche, durch *D* bezeichnete Schraubenvorrichtung. Wenn jedoch das Instrument fortgesetzt während eines beträchtlichen Zeitraumes zur Anwendung kommt, wie z. B. im Brutschranke, so passiert es nicht selten, daß das Quecksilber sich längs

des Schraubengewindes einen Weg bahnt, wodurch natürlich die Funktion des Regulators gestört wird.

Wiederum, wenn der Regulator für hohe Temperaturen benutzt wird, wie beim trockenen Hitzesterilisator, so läuft die gewöhnliche Schraubenadjustierung Gefahr, infolge des Schmelzens des Kittes in Unordnung zu geraten. Um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, kann die in *D'* gezeigte Anordnung benutzt werden. Mit dieser Vorrichtung mag es nicht so leicht sein, den Regulator auf eine gegebene Temperatur einzustellen, aber sie bietet den Vorzug der Permanenz. Die Adjustierung geschieht durch leichtes Neigen des Regulators, so daß das Quecksilber je nachdem in das Gefäß hinein oder aus demselben herausfließen kann; sie kann auch durch Einfügung eines Stöpsels in das Gefäß vervollkommenet werden; dieser Stöpsel ist mit einer Gummiröhre versehen und durch leichtes Blasen oder Hauchen kann die Fläche des Quecksilbers ganz nach Wunsch fixiert werden.

Wie bekannt, wird Quecksilber durch Berührung von Alkohol oder Aether gewöhnlich stark geschwärzt. Diese Schwärzung kann sogar einen ausgesprochen schwarzen Niederschlag bilden, welcher die Neigung hat, die Kapillarröhre zu verstopfen. Beim Alkohol rührt die Schwärzung von Schwefelspuren her. Vor dem Füllen des Instrumentes versichert man sich daher besser, ob keine Verunreinigung vorliegt und trachte, eine etwa vorliegende zu beseitigen. Dies geschieht am schnellsten folgendermaßen: Man tut etwas reines Quecksilber in einen weiten Reagiercylinder, die dann mit Alkohol gefüllt wird. Die Röhre wird mit dem Finger verschlossen und heftig während mehrerer Minuten geschüttelt. Bleibt die Oberfläche des Quecksilbers nachher ganz klar, so kann der Alkohol sofort benutzt werden. Wenn sie jedoch, wie fast immer, schwarz wird, so muß der Alkohol gereinigt werden. Dies geschieht, indem man etwas Quecksilber mit etwa 200 ccm absoluten Alkohols zusammen in einen Kolben tut, der dann mit einem Rückflußkühler verbunden wird. Der Alkohol muß dann mehrere Stunden kochen, bis ein herausgenommener und wie vorhin geprüfter Teil das Quecksilber nicht mehr schwärzt. Der so gereinigte Alkohol kann in den Regulator getan werden, aber dabei muß sorgsam jede auch nur einen Augenblick dauernde Berührung mit Gummiröhre oder Grummistöpsel vermieden werden.

Beim Gebrauche von Aether rührt die Schwärze von Schwefel und Wasserstoffsperoxyd her, das sich immer in Aether findet, der dem Lichte ausgesetzt ist. Zum Zwecke der Reinigung muß der Aether über Natrium erhitzt und destilliert werden.

Das Füllen des Regulators ist leicht zu bewerkstelligen. Die an ihm befindliche Erweiterung kann sorgfältig über einem Bunsenbrenner erwärmt werden, um möglichst viel Luft auszutreiben. Der gereinigte Alkohol kommt dann in den oberen Teil (*A*) und fließt in den Cylinder *E*, während dieser abkühlt. Die Abkühlung kann beschleunigt werden, indem man den Cylinder *E* unter die Wasserleitung hält. Wenn so möglichst viel Alkohol hineingeflossen ist, wird der Regulator umgestülpt und der Cylinder *E* nebst der oberen Schicht Alkohol sorgfältig über einem Bunsenbrenner erhitzt, bis der Alkohol fast ins Kochen gerät. Das Instrument wird dann aufgerichtet und die ausgetriebene Luft wie vorhin durch Alkohol ersetzt. Dies geschieht so oft, bis alle Luft heraus ist. 1—2 Luftblasen bleiben gewöhnlich stehen, doch ist dies ohne Belang, da sie bald vom Alkohol absorbiert werden.

Sind Cylinder *E* und Kapillarröhre mit Alkohol gefüllt und abgekühlt, so wird reines Quecksilber in den Apparat eingeführt, und zwar derartig, daß nicht nur die Kapillarröhre und die Erweiterung, sondern auch der untere Teil des Cylinders *E* gefüllt werden, wie Fig. 1 angibt. Zu diesem Zwecke wird der Regulator in zuvor auf etwa 70° erhitztes Wasser und Quecksilber in den oberen Teil *A* getan. Hört der Alkohol auf, auszufließen, so kann der Regulator herausgenommen werden, wenn das Quecksilber rasch an Stelle des ausgetriebenen Alkohols tritt. Das überschüssige Quecksilber kann nun aus *A* ausgegossen werden und der Regulator ist zum Gebrauche fertig. Da Alkohol bei 78° ins Sieden gerät, so kann dieser Regulator augenscheinlich nur für Temperaturen benutzt werden, die 70° nicht übersteigen. Seine Empfindlichkeit ist derartig, daß die Temperatur eines gewöhnlichen Hoffmannschen Wasserbades leicht bei 0,1—0,2° gehalten werden kann.

Der Regulator mit dem Cylinder ist in verschiedenen Größen erhältlich. Folgende drei Größen habe ich für den Laboratoriumsgebrauch sehr praktisch gefunden:

a) Größe des Cylinders *E*, 15 × 80 mm. Dieser Regulator eignet sich für kleine Paraffinöfen.

b) Größe des Cylinders *E* 15 × 120 mm. Besonders praktisch zum Regulieren eines Hoffmannschen Wasserbades oder kleiner Brutschränke, wie des Nuttallschen.

c) Größe des Cylinders *E* 20 × 200 mm. Besonders passend für große Brutschränke.

Der Regulator kann in jeder der angegebenen Größen in ausgezeichneter Ausführung von Greiner und Friedrichs in Stützerbach (Thüringen) bezogen werden.

Filtrierapparate.

In diesem Centralblatte habe ich (Bd. XXII. 1897. p. 337) einen Apparat zum Filtrieren von Bakterienflüssigkeit beschrieben. Der dort abgebildete Cylinder war mit der gewöhnlichen Chamberland-Pasteur-Kerze versehen. Letztere kann, besonders beim Filtrieren von Blutserum und anderen dicken Flüssigkeiten, durch eine Berkefeld-Kerze ersetzt werden. Die Art der Befestigung am Glascylinder ist die schon beschriebene, nur daß ein Gummiring (*a*) und ein Eisenring (*b*) an den Berkefeldschen Filter geschraubt werden. Der Eisenring (*b*, Fig. 2) ist 5—6 mm dick, hat 7 cm im Durchmesser und besitzt eine mittlere Oeffnung (1,2 cm im Durchmesser), durch die gerade der Stamm der Kerze hindurchgeht. Der Gummiring (*a*, Fig. 2) ist 2 mm dick und hat einen Durchmesser von 7 cm wie eine mittlere Oeffnung von 3 cm im Durchmesser. Er sitzt zwischen der Flansche des Glascylinders und der eisernen Platte. Das Ganze wird dann fest durch kleine, bereits in meiner ersten Mitteilung erwähnte Handschrauben zusammengehalten.

In dem ursprünglichen Filtrierapparate wurde das Filtrat in einem sterilisierten, mit Tuben versehenen Erlenneyerschen Kölbchen aufgenommen. Das dicke Glas derartiger Gefäße zerbricht leicht beim Sterilisieren und überdies kann das sterilisierte Filtrat nicht rasch ohne Gefahr der Verunreinigung entfernt werden. Um dieser Schwierigkeit Herr zu werden, benutzte ich während mehrerer Jahre sphärische Aufnahmekolben, wie in *B*, Fig. 2. Diese Aufnahmekolben liefern Greiner und Friedrichs in verschiedener Größe: 500, 1000 und 1500 ccm. Sie

erfüllen ihren Zweck vortrefflich und können ohne Schaden sterilisiert werden. Der mit einem Baumwollpfropfen versehene Tubulus *E* ist mit der Luftpumpe verbunden. Das markierte *d* ist durch eine kurze Verbindung aus Gummi mit dem Stamme der Filtrierkerze verbunden. Der seitliche Tubulus *f* ist mit einer ausgezogenen und versiegelten Glasröhre *g* verbunden.

Um die filtrierte Flüssigkeit in sterilisierte Kolben oder Flaschen überzuführen, wird die Spitze der Glasröhre *g* abgebrochen, dann über einem Bunsenbrenner erhitzt, wonach die gewünschte Flüssigkeitsmenge ohne die geringste Gefahr einer Verunreinigung entnommen werden

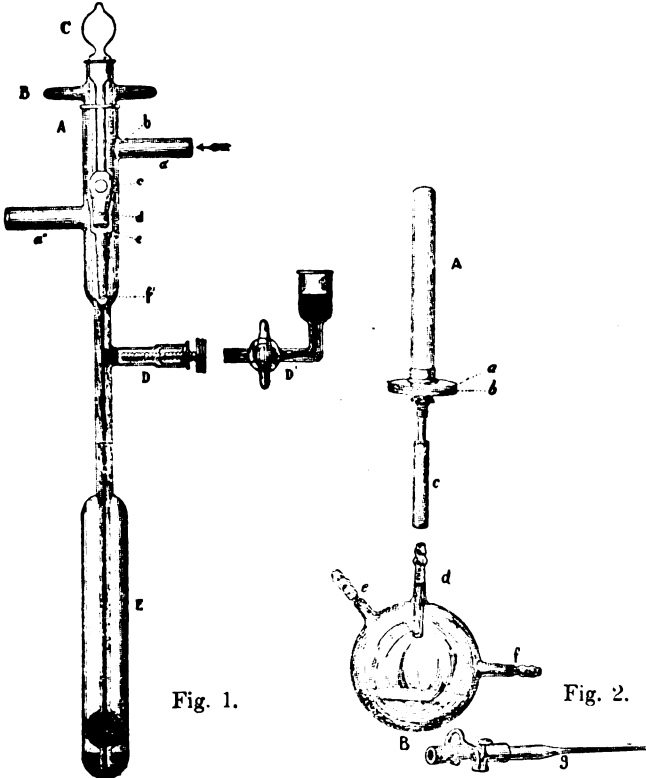


Fig. 1.

Fig. 2.

kann. Die Tube *g* kann dann natürlich wieder versiegelt werden. Braucht man nur ein kleines Quantum Flüssigkeit, so kann dies durch *d* mittelst einer ausgezogenen sterilisierten Glaspipette entnommen werden. Wenn *d* von *c* getrennt wird, muß natürlich die Oeffnung durch einen sterilisierten Baumwollpfropfen verschlossen werden.

Deckglaszange.

Fig. 3 zeigt eine Zangenform, die seit mehreren Jahren in unserem Laboratorium in Gebrauch ist. In Bezug auf Handlichkeit und Sauberkeit läßt sie nichts zu wünschen übrig und hat obendrein offenbare Vorzüge vor der Cornetschen Zange und deren Modifikationen.

Das untere Zangenblatt ist flach und an der Spitze etwa 2 mm

breit; die Spitze hat einen dünnen, scharfen Rand. Das obere Blatt ist schmal, nach unten gebogen und endigt in einer Spitze, die im geschlossenen Zustande dem unteren Zangenblatte dicht aufliegt. Die Zange kann in der einfachen Form (a) benutzt werden oder mit einer verschiebbaren Klammer (b), wie bei dem Ehrlich'schen Instrumente, versehen sein. Mittels dieser Zange können Deckgläser direkt von

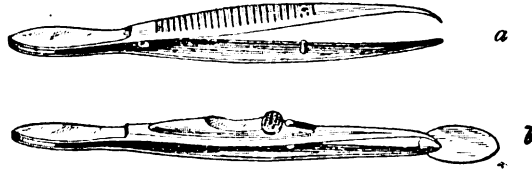


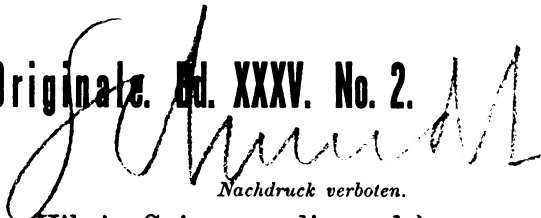
Fig. 3.

einer glatten Fläche aufgenommen und so die Berührung mit den Fingern vermieden werden. Ueberdies wird, da das obere Blatt nach unten gebogen ist, die kapillare Adhäsion von Farbflüssigkeiten vermieden. Da die Berührung mit dem Deckglase nur in einem Punkte stattfindet, so ist es möglich, die Präparate ganz rein zu waschen, ohne den häßlichen Fleck zu hinterlassen, der so oft die Folge von breit-spitzigen Zangen ist.

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

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Bail, Oskar u. Pettersson, Alfred, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität, p. 102.</p> <p>Bettencourt, Annibal, Kopke, Ayres, de Rezende, Gomes und Mendes, Correia, Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit, p. 45.</p> <p>Bongert, J., Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der großen Haustiere. (Forts.), p. 14.</p> <p>Calamida, Dante, Beitrag zum Studium der Natur der Hühnerseuchen, p. 37.</p> <p>Carlo, Ghiglione Gian, Neue Beobachtungen über das desinfizierende Vermögen der Wandanstriche, p. 111.</p> <p>Castellani, Aldo, Die Aetiologie der Schlafkrankheit der Neger, p. 62.</p> <p>Centanni, Eugenio, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben, p. 91.</p> <p>Eijkman, C., Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen, p. 1.</p> | <p>Endo, S., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen, p. 109.</p> <p>Galli-Valerio, Bruno, Notes de parasitologie, p. 81.</p> <p>Ignatowsky, A., Zur Frage vom Verhalten verschiedener Gewebe des tierischen Organismus gegen das Tetanusgift, p. 4.</p> <p>Mereshkowsky, S. S., Versuche, die Mäuse mittels des von mir aus Zieselmäusen ausgeschiedenen Bacillus in Scheunen und Schobern zu vertilgen, p. 25.</p> <p>Novy, F. G., Einige Laboratoriumsapparate, p. 124.</p> <p>Oldekop, A., Eine Modifikation des Rothberger-Schefflerschen Neutralrot-nährbodens, p. 129.</p> <p>Silberstein, Moritz, Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung, p. 68.</p> <p>Swellengrebel, N., Ueber Toxone, p. 42.</p> |
|---|--|



Nachdruck verboten.

Die „Streptothrix lingualis“ (Syn. Vibrio, Spirosoma linguale) im Munde der Gesunden und der Diphtherischen.

[Hygienisches Institut der K. Universität Rom.]

Von Dr. A. Bajardi, Honorarassistenten.

Mit 1 Tafel.

Es ist bekannt, daß sich im Diphtheriebacillus (zuerst von Ernst und Babes entdeckte) Körnchen finden, die eine intensive Färbung mit gewissen Anilinfarben annehmen. Dieselben lassen sich auch ohne Schwierigkeit mittelst einiger Kolorationsmethoden hervorheben, die kürzlich von De Nigris im hiesigen Institute kontrolliert worden sind. Ich führe die Methoden von Crouch, Neisser und Bronstein an, zu denen noch die neueste von Piorkowski hinzukommt.

Die Existenz dieser Körnchen hat, abgesehen von ihrer morphologischen Bedeutung, die Aufmerksamkeit in Hinsicht einer schleunigen Diagnose des Diphtheriebacillus auf sich gezogen.

Man hat in dieser Beziehung eine Reihe von Beobachtungen über die falschen Membranen sowie über die frischen und alten Kulturen des Diphtheriebacillus gemacht und ist zu dem Resultate gekommen, daß diese Körnchen sich mit einer gewissen Leichtigkeit und Regelmäßigkeit sichtbar machen lassen.

Unter den verschiedenen, zu diesem Zwecke angewandten Methoden würde nach den im hiesigen Institute angestellten Versuchen die von Neisser als die beste zu betrachten sein, jedoch unter der Bedingung, daß die beiden Lösungen A und B, so oft sie erneuert werden, an einem Diphtheriematerial mit Körnchen in der Weise probiert werden, daß die Zahl der Sekunden, während welcher beide Lösungen ihre Wirksamkeit ausüben sollen, festgestellt wird.

Um jedoch über den diagnostischen Wert der Kolorationsmethode der Körnchen vollkommen urteilen zu können, war es erforderlich, nachzuweisen, daß dieselbe in Bezug auf den Diphtheriebacillus eine spezifische ist.

Nun geht schon aus der Arbeit Neissers selbst hervor, daß einige vom Diphtheriebacillus absolut verschiedene Keime Körnchen enthalten, die dieselbe Färbung annehmen, wie z. B. der Heubacillus. Ferner haben die Untersuchungen anderer Autoren zu dem Ergebnis geführt, daß es Bacillen gibt, die (gleichfalls von dem Diphtheriebacillus durchaus verschieden) dieselbe Färbung annehmen können, z. B. einige Kokken (Valagussa).

Aber, abgesehen von diesen Mikroorganismen, bei denen ihrer Form und Dimension nach eine Verwechslung mit dem Diphtheriebacillus unmöglich ist, steht es fest, daß die Pseudodiphtheriebacillen und die sogenannten Xerosisbacillen der ursprünglichen Neisserschen Methode gegenüber ein Verhalten wie das der Diphtheriebacillen zeigen. Um diesem Uebelstande abzuhelpen, haben einige die Xerosisbacillen mit denen der Diphtherie zu identifizieren gesucht und die Existenz einer Gruppe von Pseudodiphtherischen gelegnet, indem sie mit Piorkowski

annahmen, daß diese nichts anderes als weniger virulente Individuen der Species des Loefflerschen Bacillus darstellten.

In einer kürzlich erschienenen Schrift Lesieurs ist die Frage eingehend behandelt worden. Der Verf. hat festzustellen vermocht, daß in der Tat dem Diphtheriebacillus ähnliche Keime existieren, die sich von dem letzteren dadurch unterscheiden, daß sie für die Meerschweinchen unschädlich sind. Jedoch in Anbetracht der Tatsache, daß es ihm gelungen ist, einige derselben virulent zu machen, betrachtet er sie als abgeschwächte Diphtheriebacillen, indem er die Frage in Betreff der anderen offen läßt.

Was ferner die Kolorationsmethode der Körnchen in Bezug auf die differenzielle Diagnose angeht, so ist Lesieur der Ansicht, daß man der Ernst-Neisserschen Methode keinen großen Wert beilegen dürfe, da diese seiner Meinung nach für den Diphtheriebacillus nicht spezifisch sei.

De Nigris hat jedoch beobachten können, daß, wenn man die Aktionszeit der beiden Färbelösungen zweckmäßig wechselt, der wahre Loefflersche Bacillus sich von dem Pseudodiphtheriebacillus wohl unterscheiden läßt. Er konstatierte in der Tat, daß man die Neisser'sche Methode als eine differentielle für die diphtherischen und pseudodiphtherischen Formen ansehen kann, falls man nach erhaltener Koloration im Anschluß an die normalen Angaben (Lösung A 25—35", Lösung B 40—45") zur Färbung schreitet, indem man die Lösung A längere Zeit wirken läßt. Während nämlich in diesem Falle bei den Diphtheriebacillen die Körnchen vollkommen unterschieden von dem Bacillenkörper hervortreten, ist bei den Pseudodiphtheriebacillen die Färbung derselben nicht völlig deutlich; vielmehr nimmt der ganze Bacillenkörper die erste Färbung an.

Im Verlaufe der von mir und anderen im hiesigen Institute ausgeführten Untersuchungen ist es mehrmals vorgekommen, daß bei Anwendung der Neisserschen Methode nicht nur zwischen den diphtherischen und pseudodiphtherischen Formen eine diagnostische Verwirrung eingetreten ist, sondern auch in Betreff anderer feiner, oft ein wenig gekrümmter Bacillenformen mit keulenförmigen Enden (die jedoch als Diphtheriebacillen betrachtet sind, auch wegen der Kleinheit und Regelmäßigkeit ihrer Körnchen).

Da es jedoch in diesen Fällen unmöglich war, in den zur Kontrolle der mikroskopischen Diagnose gemachten Plattenkulturen Kolonien von Diphtheriebacillen aufzufinden, so schien es mir notwendig, die Sache in Erwägung zu ziehen; denn ich mußte zweifeln, ob die betreffenden Mikroorganismen zu der Gruppe der Diphtheriebacillen gerechnet werden könnten.

Infolgedessen habe ich mit Materialien, die der Schlundhöhle gesunder Individuen entnommen waren und in denen ich mit der Neisserschen Koloration die Gegenwart solcher Keime gefunden hatte, Agarplatten besät, die ich fortwährend in Zwischenräumen von 5—6 Tagen untersuchte, indem ich sie im Brutschrank bei 37° C stehen ließ.

Durchschnittlich bemerkte ich 3 Tage nach der Aussaat einige spärliche oberflächliche Kolonien (kuppelförmig, dicht und gelblichweiß). Sie bestanden aus Keimen, die, nach der Neisserschen Methode gefärbt, kleine, runde, deutlich braun gefärbte Körnchen mit keulenförmigen Enden, gewöhnlich gekrümmt, zeigten.

In einer Agarstrichkultur entwickelte sich aus diesen Keimen ein

lockerer, dicker, aus kuppelförmigen Kolonien bestehender Brei. Diese Kolonien nahmen mit der Zeit mehr und mehr ein gelbliches Kolorit an.

Nachdem ich die Aussaaten in Gelatine-Stichkulturen und -Plattkulturen, auf Kartoffeln und in Bouillon gemacht hatte, konnte ich an diesen Keimen alle von Weibel beim „*Vibrio lingualis*“ beschriebenen charakteristischen Eigenschaften wiederfinden. Diese Keime sind von Migula in seinem „System der Bakterien“ als „*Spirosoma lingualis*“ beschrieben worden.

Migula drückt sich folgendermaßen aus: „Das *Spirosoma linguale* bildet in einfachster Form krumme Stäbchen, die an Größe mit den Cholera-vibrionen übereinstimmen, sowie auch Sigma-Formen. Häufiger aber pflegt es zu kürzeren oder längeren Fäden auszuwachsen. Diese sind zum Teil schön und regelmäßig wellig gebogen; oft bestehen diese „Wellen“ aus einer Reihe mehreckiger Knickungen; zuweilen sind die Biegungen so flach, daß der Faden fast oder ganz gerade erscheint. Als auffallenden Befund trifft man zuweilen (in manchen Kulturen als Regel) eine knopfförmige Anschwellung der Enden sowohl der Fäden als besonders der Sigma-Formen. Diese Erscheinung zeigt sich ebenso deutlich im hängenden Tropfen. Daneben kommen, einzeln oder zu zweien, runde, kugelige Gebilde vor, die den Eindruck machen, als wäre die ganze Wuchsform (Komma oder Sigma) auf jene Knöpfe reduziert. Da diese Verdickungen den Farbstoff sehr stark aufnehmen, so kann es sich nicht um Sporen handeln.

In seinem Verhalten zu Gelatine reiht es sich den nicht verflüssigenden Arten an. Die Stichkultur liefert nichts Besonderes; es wächst dem Nasenschleimvibrio ähnlich, doch schneller. Auf Gelatineplatten hingegen sind seine Kolonien charakteristisch. Sie erscheinen makroskopisch schmutzig-weiß, erreichen in wenigen Tagen einen Durchmesser von etwa 0,3–0,5 mm, nach einer Woche über 1 mm. Mikroskopisch zeigt sich, zumal bei den tiefer liegenden Kolonien, der Rand in feine, wirre Fasern aufgelöst, die sich mannigfach verschlingen und verfilzen und zarte, unregelmäßige Ausläufer treiben. Man wird durch dieses Bild an die Kolonien des Milzbrandbacillus erinnert. Bei den oberflächlichen, die einen leicht gelbgrünen Schimmer zeigen, ist der Rand gewöhnlich deutlicher und konturiert, aber stets mit tangential abgehenden Ausfaserungen besetzt.

In Nährbouillon wächst die Kultur als flockiges, zusammenhängendes Sediment am Boden des Reagenzglases, während die Bouillon darüber leicht getrübt ist. In jenen Flocken findet eine außerordentlich dichte Verfilzung der Fäden statt, so daß man kaum durch Gramsche Entfärbung die dichten Knäuel einigermaßen entwirren kann. Man findet hier die eigentümliche Erscheinung, daß häufig kürzere Stäbchen oder Fadenstücke sich etwas rechtwinkelig an die längeren Fäden anlegen, woraus man den Eindruck einer seitlichen Knospung gewinnen könnte. Auch in Bouillon kommen kugelige Verdickungen vor, und zwar werden sie hier besonders groß, so daß sie fast an Hefezellen erinnern.

Auf Agar wächst der *Vibrio*, im Stich dem Nasenschleimvibrio ähnlich, als ziemlich dichter Streifen. Auf der Oberfläche bildet sich ein schmutzig-weißer, nicht schleimiger, feinkörnig aussehender Belag. Eigenbewegung im hängenden Tropfen ist nicht zu beobachten.“

Um die Frage besser aufzuklären, habe ich mir diesen Bacillus aus dem bakteriologischen Laboratorium Králs verschafft, denselben vom

morphologischen und biologischen Gesichtspunkte aus studiert und mit dem von mir isolierten verglichen.

So habe ich gefunden, daß die Keime folgende charakteristische Eigenschaften besitzen:

Mikroskopische Eigenschaften.

Gefärbte Präparate. Färbt man mit dem Ziehlschen Fuchsin 2—5 Minuten in der Kälte oder unter Erwärmen (bis sich der erste Dampf zeigt), so bemerkt man auf dem mikroskopischen Felde seltene isolierte, häufiger in Gruppen verbundene Formen, in denen intensiver kolorierbare Teile hervortreten.

Bei oberflächlicher Beobachtung erinnern diese Formen an Kokkenhaufen, die von einer sie fest verbindenden, sich schwach färbenden Substanz zusammengehalten werden.

Die isolierten Formen sind verschiedener Art; einige kurze und gedrungene haben einen in zwei gleichmäßig und intensiv färbbare Teile unterschiedenen Körper und machen den Eindruck von Diplokokken; andere Formen dagegen sind länglich; schließlich finden sich noch andere längere und gleichmäßig färbbare, die sich durch ein dickeres, erweitertes, an eine Keule erinnerndes Ende auszeichnen.

Einige Enden dieser Formen sind abgerundet und intensiv gefärbt und der am intensivsten färbbare Teil hat entschieden die Form eines runden Körpers. In einigen dieser Formen scheint der am stärksten färbbare Teil sozusagen einen Bindestrich zwischen den voneinander entfernten Teilen des Bacillus zu bilden.

Färbt man bei beginnendem Dampf mit alkalischem Methylenblau (Loeffler), so stellen sich die Mikrobengruppen als eine Reihe blauer Körnchen dar, die sich in einer gewissen Entfernung voneinander befinden. Diese sind klein, punktförmig und gleichsam durch ein protoplasmatisches Netz miteinander verbunden; sie haben fast das Aussehen von Netzknoten.

Die isolierten kurzen Formen enthalten sehr oft zwei von diesen Körnchen; bei den länglichen zeigt sich gewöhnlich an einem Ende ein größeres, an welches bisweilen in dem dem Protoplasma am nächsten liegenden Teile ein kleineres angelehnt ist.

Selten bemerkt man im bakteriischen Inhalt dieser Formen hier und da andere Körnchen; in allen Fällen befinden sich diese, wenn sie vorhanden sind, im zentralen Teile. Außerhalb des Bakteriums kommen sie nicht vor.

Färbt man mit dem Loefflerschen Blau, so erscheinen die Formen viel dünner als die mit dem Ziehlschen Fuchsin kolorierten.

In den Präparaten aus alten Kulturen sieht man auch hier und da eine fadenähnliche Form, jedoch mit nicht langen und niemals ganz geraden Fäden, in denen sich keine intensiver gefärbten Punkte finden. Ferner bemerkt man nicht selten Formen, die das Aussehen von Kokken haben.

In den gefärbten Präparaten von 30 Tage alten Kulturen walten die kurzen und dicken Formen vor, in denen intensiver kolorierte Punkte nicht mehr deutlich sichtbar sind. Hier und da finden sich jedoch längere Formen, sowie solche, die das typische Aussehen eines Y tragen.

Färbung nach der Neisserschen Methode. Der Form und den mit der Neisserschen Methode kolorierbaren in diesem Keim

befindlichen Körnchen habe ich ein besonderes Studium gewidmet, wodurch ich zu folgenden Ergebnissen gelangt bin:

Färbt man nach Neissers Methode getrocknete und fixierte Präparate, sei es von alten, sei es von frischen Kulturen, so wird das Aussehen des mit Loefflerschem Blau kolorierten Präparates noch markierter. In der Tat tritt in der Masse des mit Vesuvium deutlich gelb gefärbten Materials eine große Anzahl von Körnchen hervor, die vollkommen rund sind und teils die Form von Punkten haben, teils größer sind und gewöhnlich in Paaren, so daß das Präparat das typische Aussehen einer Diphtheriekultur erhält, die mit der für die Färbung der Polarkörnchen bestimmten Neisserschen Methode gefärbt ist.

Wenn man das Präparat an den Stellen, wo das Material weniger reichlich ist, untersucht, so findet man, daß die Körnchen im Innern der protoplasmatischen Bacillusmassen, gerade wie beim Diphtheriebacillus, in Reihen angeordnet sind. Man bemerkt deren 2, 3 und sogar 5; ist ihre Anzahl jedoch so groß, so sind sie klein; ist dieselbe gering, so sind sie größer.

In den keulenförmigen Keimen sieht man an der Spitze ein einziges Körnchen, das die übrigen an Größe weit übertrifft; jedoch in manchen dieser Formen finden sich andere von geringeren Dimensionen.

Dieser Bacillus läßt sich mit der Gramschen Methode färben.

☞ **Frische Präparate.** Betrachtet man den Keim in frischen 24-stündigen Bouillonkulturen, so erscheint er in der Form eines feinen Stäbchens, unbeweglich und bisweilen wellenförmig, mit homogenem Inhalt, abgesehen von einigen Stellen, wo man einen mehr lichtbrechenden Körper, bisweilen an einem der Enden, bisweilen in der protoplasmatischen Masse selbst, bemerkt.

Die isolierten Formen sind sehr spärlich; dagegen walten kleine Gruppen von Formen vor, die vereinigt gleichsam das Maschenwerk eines kleinen Netzes vorstellen.

Bei genauer Beobachtung des Präparates wird es zweifellos, daß in dem erwähnten Netzen sehr häufig Kontinuität vorhanden ist, eine Kontinuität, die von einer wirklichen Verzweigung herrührt.

In alten 30-tägigen Bouillonkulturen zeigen die Bakterien wieder die kurze, dicke Form, die ihnen in jungen Kulturen eigen ist. Das körnige Aussehen ihres Inhaltes ist jedoch nicht mehr evident, während eine Tendenz, sich in Haufen zu vereinigen, hervortritt.

In diesen alten Kulturen ist es daher sehr schwer, isolierte Formen zu entdecken.

In alten 80-tägigen Kulturen bestehen die Keime wesentlich aus kleinen, kurzen, dicken Formen, unter denen es nicht möglich ist, irgend eine verlängerte zu unterscheiden.

Diese Formen treten anscheinend in Paaren zu je zweien auf; betrachtet man sie jedoch genauer, so ergibt sich, daß dieses Aussehen zwei lichtbrechenden Körnchen, die sich in ihrem Inhalt befinden, zuzuschreiben ist.

Keine von diesen körnigen Formen geht in fadenähnliche über.

Prüft man die jungen Bouillonkulturen, so bleibt kein Zweifel darüber, daß das „Spirosoma linguale“ sich nicht nur durch Spaltung vervielfältigt, sondern auch in der Weise, wie es bei den gewöhnlichen Hyphomyceten der Fall ist, indem es ein dünnes Mycel bildet, das sich dichotomisch teilt. Es scheint sogar, daß der Ausgangs-

punkt der jungen Zweige in Beziehung zu den in den Bacillen befindlichen lichtbrechenden Körpern steht. So oft sich eine Verzweigung bildet, wächst der Keim um eine bestimmte Länge; dieses Wachstum hört jedoch auf, sobald sich am Ende des Mikroben eines der erwähnten Körperchen bildet.

Bei Untersuchung der alten Kulturen erscheinen diese Tatsachen weniger evident. Jedoch die kurzen, kokkenförmigen Bildungen, die sich hier finden und aus den oben erwähnten lichtbrechenden Körnchen zu bestehen scheinen, könnte man als Sporen ansehen; aber den spezifischen Farbstoffen gegenüber ist ihr Verhalten ein anderes.

Kulturelle Eigenschaften.

Plattenkulturen. In den Plattenkulturen in Gelatine sieht man, nachdem sie 12—24 Stunden im Brutschrank bei 18° C geblieben sind, mit bloßem Auge punktförmige Kolonien, die sich gewöhnlich im Innern der Masse des Nährbodens entwickeln. Bei einer Vergrößerung von ungefähr 60 Durchmessern stellen sie sich als rundlich, stark körnig dar, von gelblichem Kolorit und mit verästelten Rändern. Die Zweige lösen sich vom Rande ab und einige von ihnen verzweigen sich isoliert von diesem. Die Kolonie hat das Aussehen eines Gesträuches; man wird keinen Verflüssigungshof an der Peripherie der Kolonie, ebensowenig einen zentralen Kern, gewahr, weil die Verflüssigung langsam, erst nach vielen Wochen und nur unterhalb der Kolonie, stattfindet bei einer Temperatur unter 20° C. Bei dieser Temperatur beginnt die Verflüssigung schon nach 1 Woche.

In Plattenkulturen in Agar entwickeln sich die Kolonien, nachdem sie 12 Stunden im Brutschrank bei 37° C gestanden haben, und, was ihr Aussehen betrifft, so sind sie den gesträuchförmigen der Gelatine sehr ähnlich; selten kommen jedoch isolierte, vom Rande der Kolonie abgelöste Zweige zum Vorschein.

Stichkulturen. In den Stichkulturen in Gelatine entwickelt sich auf der Oberfläche ein hervorragender, rundlicher, im Zentrum eingesenkter Belag, der sich nicht weit von der Inokulationslinie verbreitet; die Oberfläche desselben ist tütenförmig und seine Ränder fein wellenförmig. Den Stich entlang hat sich ein unten abgebrochener Streifen gebildet, von dem durchsichtige Dendritenformen mit keulenförmigen Enden ausgehen, die in vertikaler Richtung zu der Inokulationslinie stehen, von der sie sich wenig entfernen; nach der Tiefe hin nehmen sie allmählich an Länge ab.

Das Aussehen des Stiches ist durchaus charakteristisch und erinnert an eine Lampenbürste.

Die den Stich umgebenden faserigen Formen sind so dicht aneinander gedrängt, daß man einzelne Verzweigungen nicht unterscheiden kann; so bilden sie rings um den Inokulationsstreifen eine Art von Hof, der klarer, gelappt und transparent ist. Mit der Zeit verflüssigt sich die Gelatine in Cylinderform und der Ueberzug an der Oberfläche fällt auf den Boden des Cylinders. Nach 2 Monaten ist die Gelatine in den Röhren bis zu der Höhe von 1 cm verflüssigt; die Verflüssigungszone bleibt klar, wenn die Kulturen bei einer Temperatur unter 20° C gehalten werden; bei 20° C wird sie trübe. Nur beim Schütteln steigen einige Flöckchen auf.

Bei den Stichkulturen in Agar findet die Entwicklung eines gleichfalls emporgehobenen, ziemlich weit ausgebreiteten Belages auf dem

Nährsubstrat mit fein wellenförmigen Rändern statt. Auf der Oberfläche zeigen sich hier und da einige Erhöhungen und es scheint, daß dieselbe aus übereinander liegenden Kolonien besteht. Sie ist feucht und von einem anfangs schmutzig-weißen Kolorit, das allmählich gelblich wird.

Längs der Stichelinie bemerkt man die Entwicklung eines Bändchens mit oft zart gelappten Rändern, während die Peripherie der Lappen sehr fein wellenförmig ist. Bemerkenswert ist, daß sich bisweilen auf der Oberfläche des Agars, den Rändern des Glases entlang, einige kleine Kolonien mit fein wellenförmigen Rändern entwickeln, aus denen wieder andere Kolonien hervorgehen, die sich nach dem unteren Teile des Röhrchens richten.

Strichkulturen. Auf schrägem Agar bildet sich ein schmutzig-weißer Ueberzug mit einer anfänglich feuchten, später trockenen Oberfläche, der sich nicht weit von der Inokulationslinie entwickelt. In alten Kulturen nimmt er ein fein höckeriges Aussehen und eine kanariengelbe Färbung an. Die Höcker wachsen hier und da so üppig, daß sie einem Nadelknopf mit einem rundlichen, hervorragenden Punkte gleichen.

Wenn die Strichkultur so gemacht ist, daß kein zusammenhängender Belag entsteht, so erhält man das typische Aussehen mammellenartiger Kolonien.

In Strichkulturen auf Kartoffeln ist die Entwicklung des *Spiriosoma linguale* eine sehr beschränkte und findet spät (nach 3—7 Tagen) statt. Man bemerkt hier einen etwas feuchten, kaum zum Vorschein kommenden Belag, der nur aus dem Grunde erkennbar ist, daß die Kartoffel am Inokulationspunkte ein nasses Aussehen hat. Dieser Ueberzug erinnert an die Entwicklung des Loefflerschen Bacillus auf Kartoffeln.

Später entwickelt sich längs der Inokulationslinie ein linienartiger, trockener Belag, der die Farbe der Kartoffel annimmt und sich nicht weit von der Inokulationslinie verbreitet, mit regelmäßigen Rändern und fast gar nicht hervorragend.

Wird die Kultur alt, so bleibt dieser Ueberzug trocken, ohne sich weiter im Nährboden auszubreiten, und nimmt eine ihm definitiv verbleibende gelbliche Färbung an.

Bouillonkulturen. In den ersten 24 Stunden und bei einer Temperatur von 37° C bemerkt man eine unbedeutende Trübung der Bouillon und einen geringen pulverigen Bodensatz. In der Folge wird die Bouillon klar; auf dem Boden befindet sich ein körniger Niederschlag, so daß, wenn man das Röhrchen schüttelt, kleine, sandkörnchen-ähnliche Stückchen aufsteigen; nur in den älteren Kulturen haben diese ein flockiges Aussehen.

In den 10-tägigen Kulturen zeigt sich eine Tendenz zur Bildung eines oberflächlichen Schleiers mit unterbrochenem, fragmentartigem Belag. In allen Fällen entwickelt sich ein Ring um die Röhrchen, der aus einem unzusammenhängenden, schmutzig-weißen, feuchten Belag besteht, der mit der Zeit eine gelbliche Färbung annimmt.

Biologische Merkmale.

Entwicklungstemperatur. Das Wachstum findet bei der Temperatur der Umgebung (18—20° C) und bis zu 40—42° C statt; die beste Temperatur für die Entwicklung liegt jedoch zwischen 35° und 37° C.

Schnelligkeit der Entwicklung. Die Entwicklung vollzieht sich einigermaßen langsam. In unseren gewöhnlichen Nährböden hat man in den ersten 24 Stunden bei 37° C selten eine merkliche Entwicklung. Im allgemeinen sind 48 Stunden erforderlich.

Entwicklung in Milch. Die Entwicklung findet, ohne daß die Milch gerinnt, statt, indem sich in den älteren Kulturen rings um das Röhrchen ein Ring bildet, der aus einem unzusammenhängenden, feuchten, zitronengelben Belag besteht.

Indolreaktion. In der Bouillon von Fleisch ist die indolnitröse Reaktion negativ.

Gasproduktion findet nicht statt.

Acidität der Nährböden. In den Bouillonkulturen dieses Bacillus ist die Reaktion anfangs sauer; in der Folge wird sie in den älteren Kulturen stark alkalisch und das Maximum der Alkalinität wird nach 16 Tagen erreicht. Ich habe jedoch bemerkt, daß die sehr alten Kulturen (von 2 Monaten) wieder saure Reaktion zeigen, während sie ganz spät (nach 3—4 Monaten) wieder alkalisch werden.

Pathogenesis. Injiziert man den Meerschweinchen ins Peritoneum oder unter die Haut 10 ccm einer frischen oder alten Bouillonkultur, so sterben sie nicht. Tötet man sie 7 Tage nach der Einimpfung, so bemerkt man keine besonderen Erscheinungen.

Nur am Epiploon habe ich einen kleinen Knoten von der Größe eines Hirsenkornes, von gelblicher Farbe, mit einem pusähnlichen Inhalt gefunden.

Aus diesem Knoten (ebensowenig wie aus dem Herzblut und der endoperitonealen Flüssigkeit) ließ sich kein Bakterium kultivieren; ein solches kam auch nicht unter dem Mikroskop vermittelt passender Färbungen zum Vorschein.

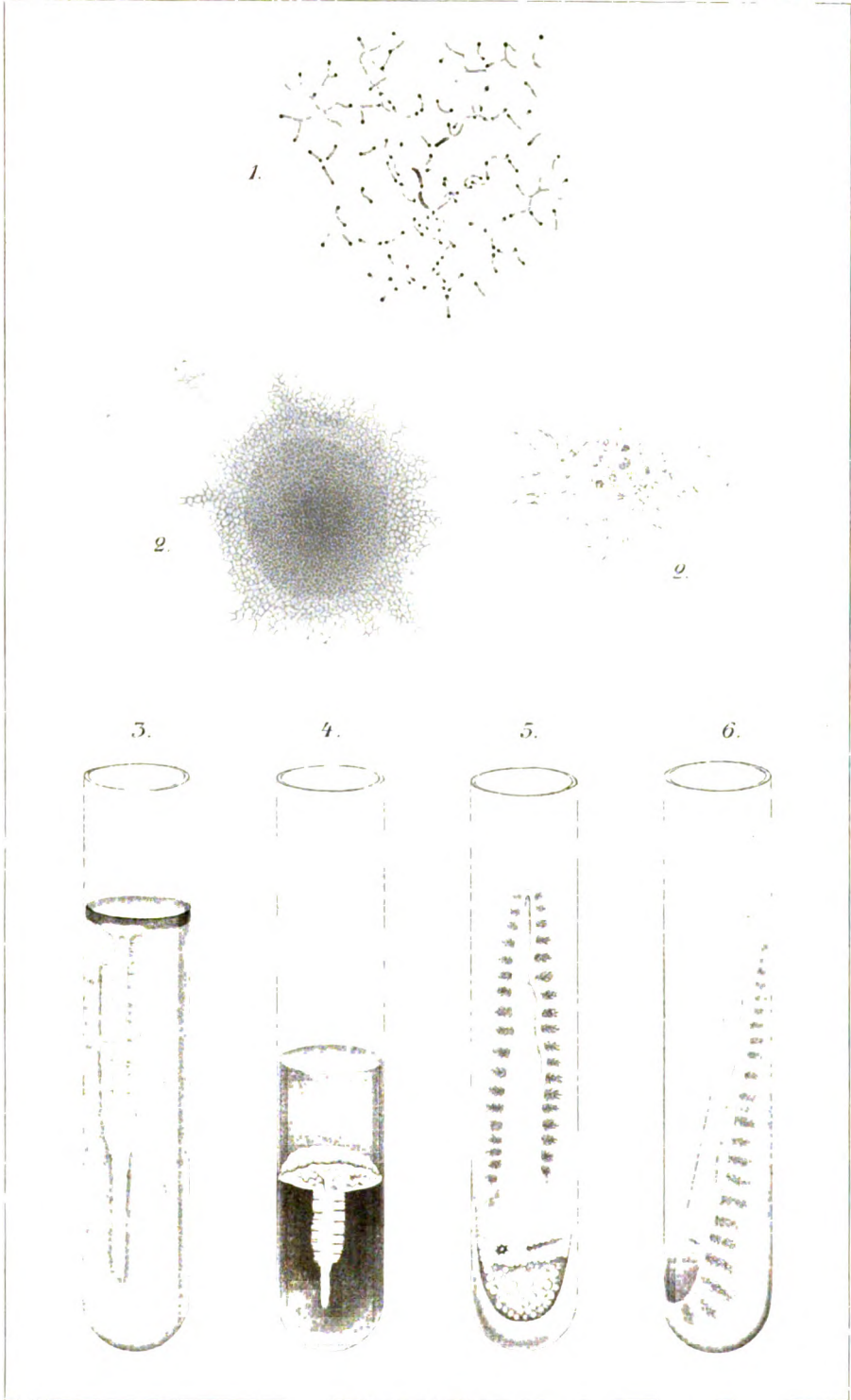
Stellung unter den Keimen. Wie sich aus den von mir hervorgehobenen Merkmalen schließen läßt, findet dieser Keim keine Stelle in der Gruppe der Vibrionen.

In der Tat scheint es mir in Anbetracht der Leichtigkeit, mit der dieser Bacillus sich mit evidenten keulenförmigen Spitzen verzweigt, und bei seiner Neigung, runde, fast kokkenartige Formen zu zeigen, ferner wegen der Art, wie er sich gesträuchförmig in Gelatine, in isolierten kuppelförmigen Kolonien in Agar und flockig in Bouillon entwickelt, daß ihm diese Eigenschaften mit der Gruppe der Streptothrix gemeinsam sind und daß er in eben diese gesetzt werden muß. Ich schlage daher vor, ihn *Streptothrix lingualis* zu nennen.

Wie sich aus dem bisher Gesagten entnehmen läßt, kann dieser im Munde gesunder Individuen vorkommende Keim in der Tat irre führen, wenn man die bakteriologische Diagnose der Diphtherie anstellt, sei es wegen seiner keulenförmigen Bildungen, sei es wegen seiner Körnchen; auch zweifle ich nicht daran, daß viele Forscher ihn öfter mit dem Diphtheriebacillus verwechselt haben.

Das einzige Verfahren zu einer schleunigen Unterscheidung dieses Mikroben von dem Diphtheriebacillus besteht in der Anwendung anderer Kolorationsmethoden der Körnchen, namentlich derjenigen von Crouch und Bronstein.

Mit der Methode des Letzteren nehmen die Körnchen der *Streptothrix lingualis* keine Färbung an, wohl aber die des Diphtheriebacillus.



Schlußfolgerungen.

Wenn man die bakteriologische Diagnose des Diphtheriebacillus mittelst der Kolorationsmethode der Körnchen unternimmt, so treten die Körnchen nicht allein bei einigen Kokken, beim *B. subtilis*, den Hofmannschen Bacillen und den Xerosisbacillen, sondern auch bei dem von Weibel in dem Belag der Zunge gefundenen *Vibrio lingualis* deutlich hervor.

Wegen der keulenartigen Form des Keimes sowie wegen der Größe und Regelmäßigkeit der kolorierbaren Körnchen ist es nicht möglich, den *Vibrio lingualis* von dem Loefflerschen Bacillus mittelst einfach gefärbter Präparate oder mit der Neisserschen Methode zu unterscheiden; es ist auch die Anwendung der Bronsteinschen Methode, mit der die Körnchen dieses Keimes keine Färbung annehmen, erforderlich.

Dieser Keim gehört seiner morphologischen und kulturellen Merkmale wegen nicht zur Gruppe der Vibrionen, sondern zu *Streptothrix*.

Literatur.

- Weibel, E., Untersuchungen über Vibrionen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888.)
 v. Hofmann-Wellenhof, G., Untersuchungen über den Klebs-Loefflerschen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. (Wien. med. Wochenschr. 1888. p. 66 u. 107.)
 Ernst, P., Ueber den Xerosisbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888. Heft 1.)
 Crouch, H., The detection of the diphteric-bac. by its peculiar reaction toward certain stains. (New York med. Journ. Vol. LXII. 1895. No. 14.)
 Flügge, C., Die Mikroorganismen. Bd. II. 1896.
 Neisser, M., Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897.)
 Migula, W., System der Bakterien. Bd. II. Jena 1900.
 Bronstein, Zur bakterioskopischen Diphtheriediagnose. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 7.)
 Piorkowski, Ueber eine Modifikation der Diphtheriebacillenfärbung. (Berl. med. Gesellschaft. 1900. 19. Dezember.)
 Valagussa, F., Contributo alla rapida diagnosi batteriologica della difterite. (Bull. della Società Lancisiana degli Osped. di Roma. Anno XXI. 1901. Fasc. 1.)
 De Nigris, B., Sui metodi per la ricerca dei granuli polari nel bacillo della difterite. (Annali d'Igiene sperim. Vol. XI. 1901.)
 Lesieur, Ch., Les bacilles dits pseudo-diphthériques. Paris 1902.
 Fedorowitsch, A., Ueber die Körnigkeit der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)

Erklärung der Tafel.

- Fig. 1. Vegetationsformen aus einer Agarkultur, nach Neissers Methode gefärbt.
 Fig. 2. Plattenkolonien in Gelatine von verschiedenem Alter.
 Fig. 3. Stiehkultur in Gelatine ohne Verflüssigung (Kultur von 7 Tagen).
 Fig. 4. Stiehkultur mit Verflüssigung der Gelatine (2 Monate alt).
 Fig. 5. Striehkultur auf Agar, von vorne gesehen.
 Fig. 6. Striehkultur auf Agar, von der Seite gesehen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Herkunft einer Rosahefe.

Von **E. Klein** und **Mervyn Gordon** in London.

Bei einer vergleichenden Untersuchung einer für Mensch und Tier pathogenen, dem Soorpilze verwandten Species von *Saccharomyces*, die unserer Beobachtung nach als die Ursache einer ausge dehnten, durch den Genuß einer bestimmten Kuhmilch bedingten fieberhaften Tonsillitis (Erwachsene sowie Kinder waren dabei in gleichem Grade beteiligt) in Lincoln während des Frühjahres 1902 sich erwies, wurde von mehreren Seiten die Vermutung ausgesprochen, daß möglicherweise die in den betreffenden Weideplätzen auf Disteln (*Carduus arvensis*) auffallend reichlich vorhandenen Uredineen etwas damit zu tun hätten. Es ist ja bekannt und wurde von englischen, deutschen und französischen Botanikern (siehe Plowright, *British Uredineae and Ustilagineae*. London 1889. p. 14, 15)argetan, daß die ovalen Sporen mehrerer Uredineen in zuckerhaltigen Flüssigkeiten als Sproßhefe eine selbständige Existenz weiterzuführen im stande sind. Herr Dr. Plowright hat uns in bereitwilliger Weise mehrere Distelblätter, auf denen in sehr schöner Weise das Wachstum der *Puccinia suaveolens* vor sich ging, eingeschickt. Auf der Oberfläche dieser Blätter konnte das Vorhandensein der orangebraunen Sporenhäufchen sehr leicht konstatiert werden. Mit diesen Sporen haben wir eine Reihe von Kulturversuchen auf den bei bakteriologischen Untersuchungen gebräuchlichen Medien sowie Tierexperimente angestellt, und erlauben wir uns, über die betreffenden Resultate hier zu berichten, da dieselben in mancher Beziehung nicht ohne Interesse sein dürften.

Es hat sich vor allem herausgestellt, daß in den geläufigen Medien (Gelatine, Agar, Bouillon, Blutserum) die Sporen, obgleich gut gedeihend, zu keiner Zeit zu Formen sich entwickeln, die den *Saccharomyces* oder Oidien vergleichbar sind, denn weder Askosporen noch Hyphen oder mycelbildende Formen konnte man in deren Wachstum konstatieren. Das resultierende Wachstum war stets eine und dieselbe Species von Hefezellen, die in unerwarteter Weise eine Species von Rosahefe darstellte. Dieselbe erwies sich mit der bekannten, aus Luft und Wasser herstammenden Rosahefe, die besonders in den Sommermonaten als häufige Verunreinigung der Plattenkulturen auftritt, wenn nicht als identisch, doch sehr nahe verwandt.

Die Farbe der Kulturen, in denen ein gutes Oberflächenwachstum statthatte, ist deutlich korallenrot; in dünner Schicht, d. h. bei spärlichem Wachstume, ist die Farbe leicht rosarot.

Die Hefe der Kulturen besteht aus ausgesprochen elliptischen Zellen, an denen die Sprossung leicht und klar zu Tage tritt. Die Zellen färben sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben und behalten Gram sehr gut. Mit Loeffler-Methylenblau gefärbt, zeigen die größeren Zellen (5μ lang und $2,8 \mu$ breit) eine bis mehrere Vakuolen und vereinzelte tiefblau gefärbte Körnchen. Bei den kleinsten Zellen ($2,8 \mu$ lang und $1,9 \mu$ breit) ist das Protoplasma meist gleichmäßig gefärbt. In getrockneten und gefärbten Ausstrichpräparaten von auf der Zuckergarboberfläche gewachsenen Kolonien sind die Zellen durch eine nur schwach färbbare homogene Zwischensubstanz zu Massen vereinigt. Die

Kolonieen sind nach 2—3 Tagen bei Zimmertemperatur auf den Zuckeragarplatten als runde, wenig erhabene, am Rande leicht durchscheinende, rosarote Plaques bemerkbar, die sich rasch vergrößern, die Breite von mehreren Millimetern erreichend. Der Mikrobe zeigt bei 37° C in keinem Medium irgend welches Wachstum, wächst gut bei Zimmertemperatur bis 21° C. Er wächst nur spärlich in der Tiefe und anscheinend ohne Farbe, möglicherweise ist die Abwesenheit der Farbe dem spärlichen Wachstume zuzuschreiben; er wächst sehr gut auf der Oberfläche und zeigt dann die Rosafarbe in ausgesprochenem Maße. Auf den wenig oder keinen Zucker enthaltenden Medien ist das Wachstum sehr beschränkt, auf den 2 Proz. Traubenzucker enthaltenden Medien ist das Wachstum reichlich. Am besten ist daher das Wachstum auf der Oberfläche der Zuckergelatine und des Zuckeragars. Auch auf der Oberfläche des erstarrten Blutserums ist gutes Wachstum bei Zimmertemperatur. Zuckergelatine wird durch den Mikroben nur langsam erweicht und nur wo gutes Wachstum statthat. In der Stiechkultur zeigt daher die auf der Oberfläche des Stiches sich entwickelnde rote Platte eine Einsenkung, die durch die langsame Verflüssigung der Gelatine bedingt ist. Im Stiche selbst ist nur spärliches Wachstum vorhanden und bleibt daher die Verflüssigung aus. In der Zuckerbouillon ist am Boden das Wachstum in Form eines leichten Sediments, die Bouillon selbst nur wenig getrübt. Säure wird nicht gebildet, auch ist Gärung nicht zu konstatieren.

In der Milch tritt gutes Wachstum nur auf der Oberfläche der Rahmschicht auf, die sich bald mit einem roten Häutchen bedeckt; nach ungefähr einer Woche fängt die Milch sich zu zersetzen an, indem unter der Rahmschicht die Flüssigkeit allmählich gegen die Tiefe zu dünn und leicht bräunlich wird.

In keinem der Medien und zu keiner Zeit hat der Mikrobe irgend eine andere Form als die einer wahren Sproßhefe; von Askosporen, von Hyphen oder Mycelfäden haben wir nichts finden können. Subkutane Injektion von Meerschweinchen, sei es mit Sporenmassen der *Puccinia suaveolens*, sei es mit großen Dosen der Kultur der Rosahefe, hatte keinen Erfolg, ebensowenig konnten wir Erfolg erzielen durch Injektion von großen Dosen der Aufschwemmung der Kultur in die Ohrvene des Kaninchens. Der Mikrobe ist somit ohne pathogene Wirkung auf Nager.

Aus den vorgeschickten Untersuchungen ist daher der Schluß gerechtfertigt, daß eine bestimmte Rosahefe den Sporen der *Puccinia suaveolens* ihre Herkunft verdankt. Inwiefern auch andere bestimmte Species von Hefen, weiße und rote, bestimmten höheren Pilzsporen ihre Abstammung verdanken, eine Vermutung, die unter anderen auch von Frosch (Flügge, Mikroorganismen. Bd. II. p. 45) Ausdruck erhält, müssen weitere Untersuchungen lehren. Die oben erwähnten, von Plowright (l. c. p. 14 und 15) im allgemeinen angeführten Beobachtungen bilden eine genügend feste Grundlage.

Nachdruck verboten.

Der Aspergillus des Tokelau.

Von Prof. Dr. C. Wehmer.

Mit 9 Figuren.

Als „Tokelau“¹⁾ (Samoa disease, Pita, auch *Tinea imbricata*) bezeichnet man bekanntlich eine in den letzten Dezennien wiederholt beschriebene epidemische Hauterkrankung der Eingeborenen gewisser ozeanischer Inseln (Fidji-, Samoa-, Gilbert-, Salomonsinseln u. a.). Daß der in Gestalt schuppiger Ringe auf Rumpf wie Extremitäten erscheinende Ausschlag ansteckend ist, ist experimentell erwiesen; er ist auf den Südseeinseln so häufig, daß in manchen Dörfern fast alle Bewohner damit behaftet sein sollen (Koch). Als Erreger dieser auch als *Herpès desquamans* oder *Herpès tropical* von französischen Forschern benannten Krankheit gelten von jeher Trichophyton-artige Mycelpilze — man rechnet sie zu den sogenannten Trichophyteen. Das scheint aber noch keineswegs ganz sichergestellt. Wenigstens sind neuerdings einige Befunde bekannt geworden, die jedenfalls auch das Mitspielen anderer und zwar besser charakterisierter Pilze nahelegen.

Es wurden von Tribondeau²⁾ bei Gelegenheit des Studiums der Krankheit an Ort und Stelle gut ausgebildete sporenbildende Organe in den infizierten Hautschuppen gefunden, deren Ähnlichkeit mit *Aspergillus*-Konidienträgern dem Untersucher — welcher den Pilz freilich als „*Lepidophyton*“ bezeichnete — alsbald auffiel. Auch Dubreuilh³⁾ konstatierte diese Uebereinstimmung, erachtet jedoch die Annahme, daß ein *Aspergillus* allgemeiner als Krankheitsursache in Frage kommt, für noch nicht erwiesen. Dem sei nun, wie ihm wolle, jedenfalls zeigen die Befunde Tribondeaus doch, daß auch ein *Aspergillus*-artiger Pilz beteiligt sein kann. Wohin dieser unter den bereits bekannten Arten zu stellen ist, geht aus den kurzen Beschreibungen der beiden Forscher, die eine „Bestimmung“ nicht versuchten, kaum hervor. Ich habe daher diesen interessanten Pilz, den mir Tribondeau in einer Reihe von Präparaten mit der Bitte um einige nähere Auskunft über seine Natur zusandte, etwas genauer untersucht und unter anderem folgendes festgestellt:

Es liegt — wie Blase, Sterigmen und Konidienketten zeigen — tatsächlich ein echter *Aspergillus*, also nicht bloß ein *Aspergillus*-ähnlicher Pilz vor. Auch ergibt sich, zumal auf Grund der eigenartigen Konidien, alsbald, daß die Species neu ist, jedenfalls mit keiner der bislang beschriebenen, von mir a. a. O.⁴⁾ zusammengestellten Arten ver-

1) Gesprochen Tokéla-u; Bezeichnung der Krankheit auf den Samoa- und Fidji-inseln, wohin sie von den Tokelau-Inseln zwischen 1860 und 1870 eingeschleppt sein soll.

2) Tribondeau, M., Note complémentaire sur le *Lepidophyton*, champignon parasite du Tokelau. (Compt. rend. de la Réunion Biologique de Bordeaux. 1903. Janv. 13.) — Derselbe, Le *Lépidophyton*, champignon parasite du Tokelau. (Ibid. 1901. Janv. 19.) — Derselbe, Le Tokelau dans les possessions françaises du pacifique Oriental. (Arch. de méd. navale. 1899. Juin; auch S.-Abdr. Paris 1899. 50 p.)

3) Note sur le parasite du Tokelau. (Journ. de méd. de Bordeaux. 1902. No. 20. p. 312. Mai 18.)

4) Wehmer, C., Die Pilzgattung *Aspergillus* in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. 131 p. Genf 1901. (S.-A. aus Mémoire de soc. phys.

einigt werden kann. Vorausgesetzt, daß die Farbe der Konidienrasen ein grünliches Gelb wäre — was zwar ohne Kulturversuche nicht zu entscheiden — ließe sich der Pilz unschwer unter die „Makrosporeen“ der Gruppe I — also neben *A. glaucus* Lnk., *A. flavus* Lnk. und *A. Oryzae* (Abg.) Cohn — einreihen¹⁾, mit denen er auch sonst morphologisch manche Aehnlichkeit hat; andererseits stellen ihn die oft zarten und winzig kleinen Konidienträger neben *A. fumigatus* Fres., der wie auch *A. flavus* Lnk. bekanntlich pathogen für Tiere sein kann. Daß er gleichfalls ein hohes Wachstumsoptimum besitzt, ist nach seinem Vorkommen kaum zu bezweifeln; mit ihm steigt die Zahl der sichergestellten *Aspergillus*-Arten, welche gelegentlich im oder am menschlichen Körper vorkommen, auf 5 (*A. fumigatus* Fres., *flavus* Lnk., *niger* (Cram.) v. Tiegh., *nidulans* Eid.)²⁾, von denen er aber der einzige auf freier Körperoberfläche vorkommende wäre³⁾; natürlich besteht auch die naheliegende Möglichkeit seines Auftretens in Körperhöhlungen (Ohr, Nase, Lunge), und tatsächlich ist ja die Zahl der Otomykosen, z. B. in Indien — durch zum Teil noch unvollkommen bekannte und recht kritische *Aspergillus*-Arten — eine sehr erhebliche⁴⁾.

Schlauchfrüchte kennen wir nur von ganz wenigen *Aspergillus*-Arten, es befremdet also deren Fehlen auch bei unserer Art nicht weiter; übrigens würde ich diese selbst bei etwa erbrachtem Nachweis von Perithezien nicht der Gattung *Eurotium* subsumieren, sondern aus triftigem Grunde die Einheitlichkeit der Gattung *Aspergillus* aufrecht erhalten, hat doch bislang auch noch niemand an der Zusammenfassung der Schlauchfrüchte-bildenden *Sterigmatocystis nidulans* Eid. mit den übrigen *Sterigmatocysten* in eine einzige Gattung Anstoß genommen, und schließlich kämen wir vor lauter wissenschaftlichen Trennungsgründen zu einem völligen für Unterscheidungszwecke bedenklichen Zerreißen der durch ihre Konidienträger so gut charakterisierten und leicht kenntlichen *Aspergillus*-Gruppe; schon die Abtrennung der Gattung *Sterigmatocystis* ist nicht einwandfrei. Damit wende ich mich zu dem praktischen Befunde.

Die Betrachtung der aus kranken Hautstellen gefertigten, entfetteten, gefärbten⁵⁾ oder ungefärbten Präparate ergibt wenig Auffälliges; vor-

et d'hist. natur. de Genève. T. XXXII. Part. 2. No. 4). Daß eine Verzettelung der Arten dieser wohlcharakterisierten „Formgattung“ *Aspergillus* auf 3 verschiedene Genera (*Eurotium*, *Sterigmatocystis*, *Aspergillus*) praktisch unzuweckmäßig, auch wissenschaftlich kaum begründet ist, habe ich hier wiederholt betont. Streng wissenschaftlich müßten wir überhaupt nicht 3, sondern mindestens 4 Gattungen aufstellen.

1) s. Anm. 4 auf p. 140.

2) Im Handbuch der pathogenen Organismen von Kollé und Wassermann (1903. p. 553) führt Plaut, in dessen Bearbeitung der Hyphenpilze die Botanik leider nicht ganz zu ihrem Rechte kommt, wieder die alten *A. subfuscus* Joh. Ols. und *Eurotium malignum* Lindt. auf, deren zweifelhaften Specieswert ich (l. c.) bereits darlegte. Wozu immer wieder die Anführung von Species, welche ohne genügende Beschreibung und Vergleichung mit bereits vorhandenen aufgestellt und allem Anschein nach nur Synonyme sind?

3) Wenigstens scheint bei sonstigen derartigen Vorkommnissen die Species nicht zuverlässig bestimmt zu sein. Beiläufig bemerkt, stammt übrigens ein *A. niger* meiner Sammlung von der Beinwunde eines verstorbenen Fachgenossen.

4) Hatch and Row, Fungus diseases of the ear. (The Lancet. 1900. Dec. 1.) Ob da neben *A. fumigatus* und *A. niger* auch *A. albus* und *A. glaucus* neben den problematischen *A. „flavescens“* und *A. „viridescens“* vorkommen, bleibt recht fraglich, eine genauere Speciesidentifizierung aber sehr erwünscht.

5) Ueber Herstellungstechnik s. Tribondeau, l. c.

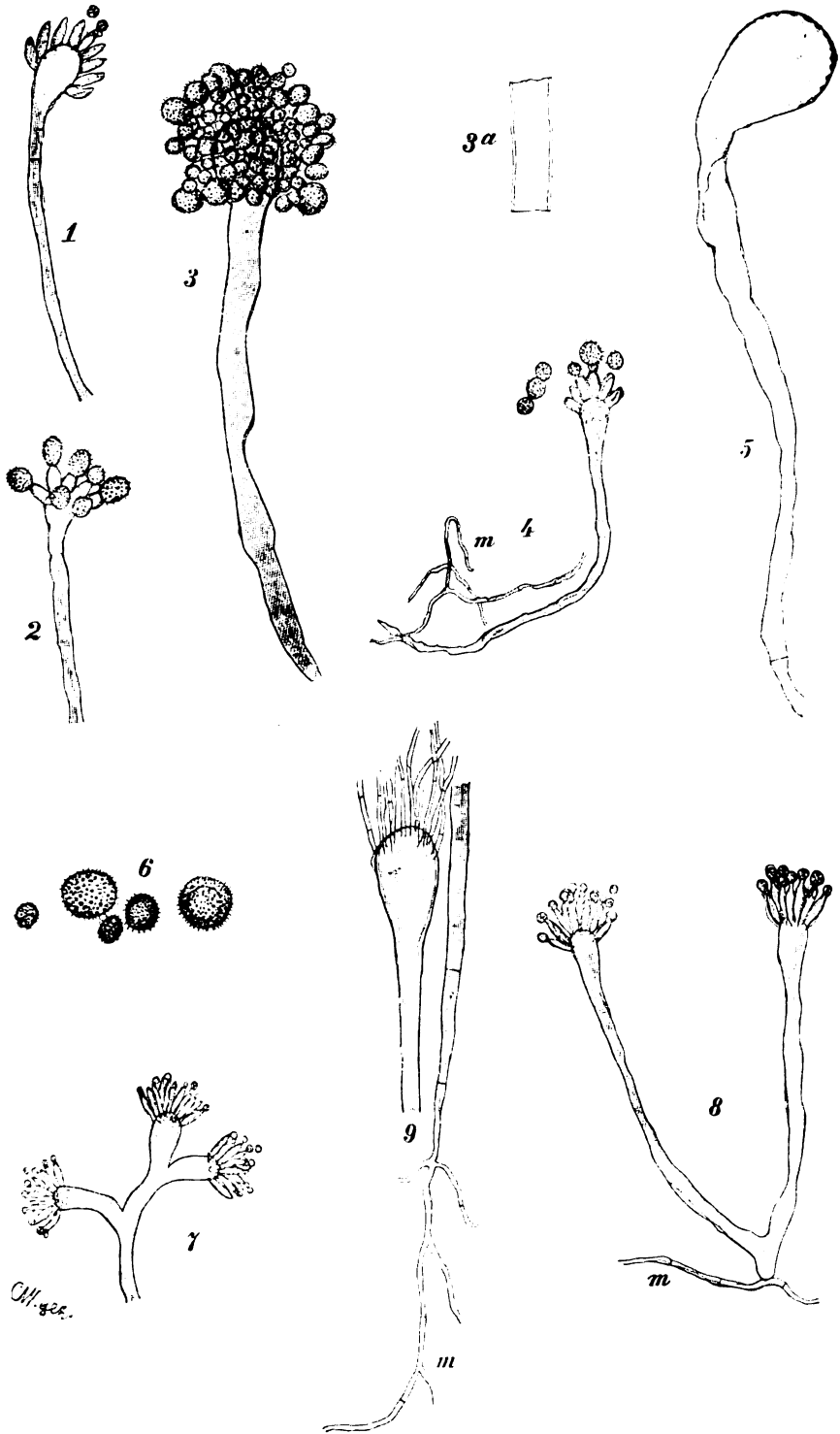
herrschend sind sehr zarte, verzweigte, septierte Hyphen (1—2 μ dick), die in großer Zahl zwischen den Epidermiselementen zu Gesicht kommen, zumal an entfetteten Präparaten auch ohne besondere und sehr wohl zu entbehrende Färbung deutlich hervortreten. Gelegentlich sieht man an ihnen blasige Anschwellungen, wie sie ja in Mycelien — und speziell auch solchen von Aspergillen — nichts Seltenes sind, auch kann ein weitgehender Zerfall in einzelne Zellen stattfinden. Konidienträger irgend welcher Art sind mit bloßem Auge in den Präparaten nicht wahrnehmbar, auch mikroskopisch bedarf es einer genaueren Durchmusterung, um etwas anderes als sterile Hyphen zu finden. Man sieht dann aber deutlich ab und zu den Uebergang der zarten Hyphen in weitleumige, röhrlige Gebilde mit mehr oder weniger angeschwollenem, sterigmenbedecktem Ende — offenbare *Aspergillus*-Konidienträger. Irgend welche andere Konidien-bildende Organe habe ich nirgends gesehen, ebensowenig irgend ein anderes Merkmal, das auf Vorhandensein dieses oder jenes sonstigen Pilzes deutete. Dem Anschein nach — und soweit darüber eben ein Urteil möglich ist — liegt also eine spärlich „fruktifizierende“, ziemlich reine *Aspergillus*-Vegetation vor.

Die Konidienträger sind variabel in Größe wie Form, beides fast in dem Maße, daß man — wenn nicht Uebergänge vorhanden wären — verschiedene Species argwöhnen könnte. Neben außerordentlich kleinen zarten Trägern von 100—200 μ trifft man vereinzelt größere und selbst ab und zu solche, die bis 900 μ lang sind; alle haben im wesentlichen die gleiche Blasenform und tragen dieselben charakteristischen Konidien. Gewöhnlich ist der Stiel unverzweigt, Verzweigung ist aber nicht selten, in ihrer Art freilich wenig übereinstimmend, so daß der Stiel sich sowohl gabelig teilen wie auch 1—2 Seitenzweige (Fig. 7 u. 8) entwickeln kann: Diese Formen machen im ganzen den Eindruck des nicht normalen, sind vielleicht Folge gestörter Entwicklung; sie erinnern an die auch bei anderen Species beobachteten Mißbildungen, denn durchweg ist in solchen Fällen gleichfalls die Blase abweichend und nur schwach ausgebildet. Die Angabe solcher Verzweigungen bei einigen Arten findet man übrigens in der Literatur nicht ganz selten¹⁾.

Die Wand der den Durchmesser der Hyphen stets weit übertreffenden röhrligen Stiele ist zart, kaum merklich oder nur schwach doppelt konturiert, die Träger sind also nicht starr wie die von *A. niger* u. a., sondern schlaff, hin und her verbogen, in Präparaten oft kollabiert und verdreht; im übrigen ist sie farblos, glatt, umschließt auch einen in keinerlei Weise hervortretenden Inhalt.

Die endständige Blase ist nicht scharf abgesetzt, gewöhnlich keulig („birnförmig“), bisweilen kaum angedeutet; die durchweg unverzweigten flaschenförmigen Sterigmen bedecken zumal bei kleineren Blasen die Kuppe, sonst auch die Seiten, sind aber vorzugsweise etwas nach oben gerichtet, strahlen also nicht radiär aus, so daß bisweilen ganz *A. fumigatus*-ähnliche Köpfchen (s. Fig. 1) resultieren. Offenbar sitzen sie sehr lose, nicht selten findet man ältere Blasen, von denen sie sämtlich abgefallen sind (Fig. 5). Als Ausnahme erwähne ich ein Köpfchen, das auch einige verzweigte Sterigmen aufwies, sowie ein solches, dessen Sterigmen direkt zu langen septierten Hyphen ausge-

1) *A. spiralis* Grov., *A. africanus* Dur. et Mont., *A. rufescens* Berl. u. a., doch reicht die Beschreibung dieser Arten wohl kaum zu einer Wiedererkennung aus, worauf ich bereits a. a. O. („Pilzgattung *Aspergillus*“, p. 124 u. 148) hinwies. Durch Kultur wäre der Wert auch dieses Merkmals für jeden Fall erst zu bestimmen.



wachsen waren, beides sind auch von anderen Arten bekannte Vorkommnisse. Charakteristisch sind die Konidien, vergleichbar und ähnlich sind sie nur denen des *A. glaucus*; kugelig bis schwach gestreckt, von außerordentlich verschiedener Größe (kleinere 3 μ , größere selbst bis 12 μ Durchmesser, also zu den größten *Aspergillus*-Konidien gehörend), sind sie dicht mit feinen, hellen Nadelchen bedeckt (Fig. 6) und gar nicht mit denen von *A. flavus* oder *A. fumigatus* zu verwechseln. Größeren Köpfchen verleihen sie einen schwach bräunlich-gelben Ton; die Konidienrasen dieser Art dürften wohl in der Färbung denen von *A. Oryzae* oder *A. flavus* ähneln. Die Neigung zu festerer Kettenbildung scheint gering, immerhin findet man hier und da noch einige, die durch die präparative Behandlung nicht voneinander gelöst sind. Wenn die Größenunterschiede in Altersdifferenzen begründet sind, so mußte das Wachstum also auch nach Trennung vom Sterigma noch andauern.

Daß unsere Art auch künstlich in Kultur zu ziehen ist, kann kaum zweifelhaft sein; woran die bisherigen Versuche scheiterten, steht dahin. Vielleicht ist das Wachstum auf den dazu benutzten Substraten so langsam, daß Fremdorganismen stets die Oberhand bekamen, darauf deuten die Mitteilungen Tribondeaus; lebendes Material für derartige Versuche stand mir leider nicht zur Verfügung. Auch so wäre erst ein besserer Vergleich mit den anderen Species möglich, es würden die Unterschiede wohl mehrfach schärfer zum Ausdruck kommen, übrigens auch ihr wirklicher Wert näher beleuchtet werden.

In den mir vorgelegenen Hautpräparaten ist die Anzahl der Konidienträger keineswegs so ganz gering, bei der meist zwerghigen Größe bedarf es aber zum Auffinden dieser im Präparat sehr verstreuten Organe einer genaueren Durchmusterung bzw. längeren Suchens, wobei man sich füglich mittlerer — und nicht starker — Systeme bedient. Negative Befunde sind sicher bisweilen Folge eines Uebersehens¹⁾; andererseits kommen sterile Hyphen — mit denen bekanntlich wenig zu machen ist — fast bei jeder beliebigen Einstellung des Präparates reichlich zu Gesicht.

Einige Einzelheiten der Beschreibung sind auch schon von Tribondeau und Dubreuilh gegeben, letzterer machte auf die feinen Wäzchen der Konidien aufmerksam, doch entsprechen die beiden Konturlinien nicht der Wand, sondern die innere derselben ist die Kontur des stark kontrahierten Plasmas, die Wand selbst ist ziemlich zart; Tribondeau, welcher die Verzweigung der Konidienträger näher schildert, spricht von einer bleichvioletten Färbung des Inhalts, was wohl für die gefärbten Präparate gelten soll, ungefärbte haben das oben geschilderte Aussehen. Die von demselben gegebenen ersten Bilder der Konidienträger (ohne deutliche Sterigmen) lassen zwar über die *Aspergillus*-Natur noch im Zweifel, klar ergibt sie sich aber schon aus den Skizzen Dubreuilhs, welcher meist gut entwickelte Köpfe vor sich hatte, deren Blase sich aber teilweise reichlich scharf vom Stiele

1) Ob das bei der Angabe Plauts (l. c. p. 641), daß er in Gewebsschnitten wie Agarkulturen *Aspergillus*-Träger nicht fand, mitspricht, steht dahin; sicher wird übrigens die Konidienträgerbildung nur unter dafür günstigen Umständen möglich sein, ihr gelegentliches Fehlen kann also nicht überraschen; innerhalb des Substrats ist sie ja ausgeschlossen, sofern nicht Lufträume vorhanden sind. Ich betone aber, daß manche *Aspergillen* (*A. fumigatus*, *A. minimus*, *A. Ostianus*) in Kultur trotz guten vegetativen Wachstums ganz sterile „Rassen“ liefern können.

absetzen. Zweifelsohne erscheinen — wie auch letzterer hervorhebt — neue Erhebungen darüber angebracht, ob der Aspergillus in weiterer Verbreitung bei dieser Hautkrankheit gefunden wird, sie also etwa häufiger eine Aspergillose als eine Trichophytie ist. Selbst bei Fehlen von Konidienträgern früge es sich aber, ob das Mycel nicht trotzdem einem Aspergillus angehört, die Neigung, andauernd sterile Kulturen (auch bei fortgesetztem Ueberimpfen) zu liefern, ist bei mehreren Arten ganz ausgesprochen.

Als bedingungslos pathogen ist auch dieser Aspergillus für Menschen — Tribondeaus Uebertragungsversuche auf Kaninchen waren ganz erfolglos — nicht anzusehen; die Erkrankung setzt zunächst eine gewisse körperliche Unsauberkeit voraus, die den Eingeborenen der Südseeinseln — nicht aber den an tägliche Waschungen gewöhnten, übrigens aber gleich ansteckungsfähigen Europäer — für sie empfänglich machen. Der Pilz bedarf also zunächst eines ihm auf der Körperoberfläche gebotenen geeigneten Entwicklungsbodens (anscheinend aber keiner, wenn auch leichten Verletzungen), um gleichsam festen Fuß fassen zu können. Weiterhin ist sie aber auch an bestimmte klimatische Bedingungen gebunden, die somit ihr mit dem der Kokospalme zusammenfallendes (Manson¹⁾ Verbreitungsgebiet bestimmen: Warme feuchtigkeits-gesättigte Luft, deren Temperatur (um 28° herum) wenig wechselt (Bonafy); „les archipels des Tuameta et des îles Sous-levent remplissent admirablement les conditions requises pour constituer un grand centre du Tokelau“ (Tribondeau). Das Auftreten des Aspergillus als „Ohrenpilz“ wäre unter solchen Umständen mit Recht zu erwarten²⁾.

Die Diagnose des, unter Beibehaltung von Tribondeaus „Lepidophyton“ als Speciesnamen, Aspergillus Lepidophyton oder wohl besser als A. Tokelau zu benennenden Pilzes möge hier folgen.

Aspergillus Tokelau nov. spec.

Mycel: Farblose, sehr zarte, 1—2 μ dicke, verzweigte, zwischen den Epidermiselementen wuchernde, septierte Hyphen, Konidienträger meist mikroskopisch klein (100 μ), auch größer (\pm 500 μ selbst bis 900 μ), mit schwach bräunlich-gelbem Köpfchen, deren Durchmesser gewöhnlich (bei kleinen Exemplaren) 8—12 μ , bei größeren bis 30 μ und selbst bis gegen 100 beträgt, Stiel einfach, seltener unregelmäßig verzweigt, farblos, glatt, dünnwandig (bis 0,5 μ), weitlumig (5 bis 13 μ dick), nicht septiert (Septen als Ausnahme zumal an verzweigten Stielen), Blase mehr oder minder keulig (6—10 μ Durchmesser bei kleinen, bei großen Trägern bis 30 μ) farblos, glatt, mit mäßig verdickter Wand (0,5 μ). Sterigmen unverzweigt, flaschenförmig (5 bis 9 μ \times 2—3 μ), mehr oder minder zahlreich (je nach Blasengröße), gewöhnlich schwach aufwärts gerichtet und nur bei größeren Köpfchen

1) Notes on *Tinea imbricata*, 1884. Zuerst beschrieben scheint die Krankheit durch Turner (1869), weitere Beiträge außer den bereits genannten brachten Nieuwenhuis und Bonafy (1893), neuerdings Koch (Archiv 1902), Sabouraud (Pratique dermatologique, T. I. 1901, p. 759). Eine halbwegs vollständige Literaturübersicht vermißt man übrigens auch bei Plaut l. c.

2) So habe ich z. B. einen A. fumigatus Fres. in Kultur, der immer nur wieder steriles Mycel ohne Spur einer Konidienbildung liefert, im übrigen mit seinen weißgrauen Decken recht gut gedeiht. Ob nicht manches „Trichophyton“ eine solche sterile Rasse eines pathogenen Aspergillus ist, wäre wohl genauerer Feststellung wert.

mehr radial ausstrahlend, Kuppe oder auch Seiten der Blase bedeckend, farblos, glatt. Konidien sehr ungleich groß (3–12 μ im Durchmesser), kugelig bis schwach gestreckt, dicht mit feinen hellen Nadelchen bedeckt, schwach gelblich, isoliert oder nur in kleinen Verbänden. Sonstige Fortpflanzungsorgane nicht beobachtet. Kultur bislang nicht gelungen. Vorkommen: Südseeinseln (Tahaiti, Neukaledonien, Samoa, Fidjinseln und benachbarte tropische Gebiete) auf bzw. innerhalb der menschlichen Epidermis besonders von Rumpf und Extremitäten, hier zu trichophytieähnlichen Krankheitserscheinungen (Samoa disease, Tokelau) führend, jedenfalls in noch näher festzustellendem Umfange dabei mitwirkend.

Figurenerklärung.

Fig. 1–5. Konidienträger verschiedener Größe; davon sind 1, 2 und 4 die häufigeren zwergigen Formen (Länge ca. 100 μ), Fig. 1 ist ganz *A. fumigatus*-ähnlich, 3 und 5 sind große Formen (bis 900 μ Länge), in Fig. 5 Sterigmen sämtlich abgefallen (altes Exemplar), in Fig. 4 sind auch Hyphen bei gleicher Vergrößerung gezeichnet, Fig. 3a: Stiel, opt. Durchschnitt, die schwach verdickte Wand zeigend.

Fig. 6. Konidien etwas stärker vergrößert (rechts: das kontrahierte Plasma angedeutet).

Fig. 7 und 8. Verzweigung der Konidienträger (Länge 100–150 μ).

Fig. 9. Konidienträger, dessen Blase an Stelle der Sterigmen ein Büschel vegetativer Hyphen trägt (Mißbildung); oberer und unterer Teil gesondert gezeichnet, letzterer mit Scheidewänden, auch den Zusammenhang mit den Hyphen (*m*) zeigend.

Nachdruck verboten.

Gasbildung und Gasatmung von Bakterien.

[Aus der med. Klinik der Universität Breslau.]

Von A. Schittenhelm und F. Schröter.‡

Mit 1 Figur.

Versuche über die bakterielle Spaltung der Hefenukleinsäure, wobei wir in gewissen Fällen eine deutliche Gasentwicklung beobachteten, veranlaßten uns, der Ursache und dem Wesen der Gase näher nachzuforschen.

Scheuerlen¹⁾ stellte den Satz auf, daß alle Bakterien mit Sicherheit wenigstens ein Gas, nämlich Kohlensäure, auch auf zuckerfreiem Nährboden erzeugen.

Diese Behauptung fanden wir durch unsere Versuche vollauf bestätigt und konnten außerdem stets das Auftreten von Stickstoff konstatieren.

Von unseren Versuchen²⁾ seien folgende angeführt:

I. 500 ccm U schinskische Lösung (ohne Glycerin, Natr. asparaginic. und Ammon. lact.) wurden mit 5,0 g nukleinsaurem Natron versetzt, mit einer Reinkultur von *Bact. coli* geimpft und 7 Tage lang bei

1) Internationale Beiträge zur inneren Medizin (Leyden-Feier). Berlin 1902. Bd. II. p. 207. Archiv f. Hyg. und Inf.-Krankh. Bd. XXVI.

2) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XL. 1903. p. 70 ff.

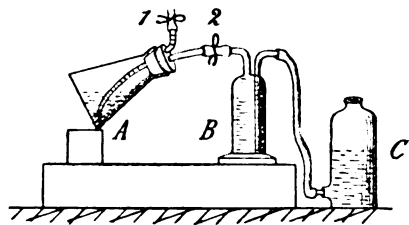
Brutschranktemperatur (38°) gehalten. Das sich bildende Gas wurde aufgefangen¹⁾, gemessen und nach Hempel²⁾ analysiert. Schwere Kohlenwasserstoffe, Wasserstoff und Methan wurden nicht gefunden. Die Resultate sind nebst denen von Versuch II in einer Tabelle zusammengestellt.

II. 1000 ccm Uschinskische Lösung (ohne Natrium asparaginic. und Ammonium lactic. mit 40 g Glycerin) + 10 g nukleinsaurem Natrium, mit einer Coli-Reinkultur geimpft und nach 4 Tagen das Gas wie in Versuch I behandelt.

Von beiden Versuchen wurden zwei Gasanalysen gemacht.

Da die Anwesenheit von Zuckergruppen nicht klar bestimmen ließ, wieviel der Kohlensäure durch Vergärung entstanden und wieviel bei der Bakterienatmung gebildet worden war, setzten wir noch zwei neue Versuche an, wobei richtige Uschinskische Lösung, jedoch ohne Glycerin, zur Anwendung kam. Da wir bei diesen Versuchen mit bedeutend kleineren Mengen arbeiteten, so konstruierten wir uns den nachstehenden Apparat (s. Fig.):

Der Erlenmeyer-Kolben *A* war mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen Löcher eine etwas gebogene, bis nahezu auf den Boden reichende und eine kurze, unterhalb des Stopfens unmittelbar abschneidende Glaskapillare gesteckt waren. Der besseren Dichtigkeit wegen war der Verschluss des Kolbens mit Kolloidum überzogen worden. Das kürzere Rohr stand mit einer aus einem Stück bestehenden sog. Gaswaschflasche *B* in Verbindung, die in angegebener Weise mittels eines Gummischlauches mit einer tubulierten Flasche *C* zusammenhing, und durch Heben der letzteren mit Wasser völlig gefüllt werden konnte. Der Inhalt des fertig zusammengebauten Erlenmeyer-Kolbens *A* wurde durch Ausmessen mit Wasser bestimmt. Die Beschickung mit dem Reaktionsgemisch geschah vom Hahn 1 aus, wo ein Trichter aufgesetzt wurde, in den das abgemessene, bereits geimpfte Material kam. Durch Senken der Flasche *C* wurde bei geöffneten Quetschhähnen 1 und 2 eingesaugt, und beide Hähne geschlossen. Nachdem bei 2 die Verbindung gelöst worden war, wurde durch Heben der Flasche *C* die Gaswaschflasche *B* völlig mit Wasser gefüllt. Als bei 2 das Wasser austrat, wurde die Schlauchverbindung zwischen *A* und *B* wiederhergestellt und Hahn 2 bei Tiefstellung von *C* geöffnet. Der ganze Apparat wurde dann im Brutschrank untergebracht.



III. Ein Erlenmeyer-Kölbchen von 195 ccm Inhalt wurde mit 80 ccm Uschinskischer Lösung (ohne Glycerin) beschickt, die mit einer Reinkultur von *Bac. coli. commune* geimpft worden war. Das abgeschlossene Luftvolumen betrug also 115 ccm.

1) Apparat siehe Zeitschr. f. physiol. Chemie, wo sich auch eine genaue Beschreibung unseres Analysenganges findet.

2) Gasanalytische Methoden. 3. Aufl. Braunschweig 1900. p. 246 ff.

	Luftvol. im Appar. vor d. Vers. ccm	D. Luftvol. enthält ccm		Gesamt- gas nach d. Vers. ccm	z. Ana- lyse ange- wandt ccm	Gefunden					
		O	N			CO ₂	ccm O	N	CO ₂	Proz. O N	
Ia	320	67,2	252,8	575	97,7	4,8	5,3	87,6	4,9	5,4	89,7
Ib	320	67,2	252,8	575	90,2	3,9	4,5	81,8	4,3	5,0	90,7
IIa	800	168,0	632,0	1150,0	97,7	24,5	1,2	72,0	25,1	1,2	73,7
IIb	800	168,0	632,0	1150,0	99,0	24,8	1,0	73,2	25,1	1,0	73,9
III	115	24,2	90,8	115	97,1	14,5	0,0	82,6	14,9	0,0	85,1
IV	125,7	26,4	99,3	125,1	88,5	13,9	0,4	74,2	15,7	0,5	83,8

IV. Ein Erlenmeyer-Kölbchen von 205,7 ccm Inhalt wurde in derselben Weise mit 80 ccm einer mit *Bact. coli commune* geimpften Uschinskischen Lösung (ohne Glycerin) beschickt. Das abgeschlossene Luftvolumen betrug also 125,7 ccm.

Nach dreitägigem Verbleib im Brutschrank bei 38° wurden die Apparate wieder herausgenommen, auf Zimmertemperatur abkühlen gelassen und das Gas, das übrigens sein Volumen gar nicht oder sehr wenig verändert hatte, gemessen und analysiert. Die Resultate finden sich in vorstehender Tabelle.

Abgesehen davon, daß unsere Resultate die altbekannte Tatsache der Sauerstoffeinatmung und Kohlensäureausatmung bestätigen, können wir daraus den Schluß ziehen, daß nicht nur, wie Scheuerlen bemerkt, die Art und Menge der Sauerstoffzuführung für das ausgeschiedene Kohlensäurevolumen maßgebend ist, sondern daß auch der Nährboden selbst eine nicht unbedeutende Rolle dabei spielt. Außerst eklatant ist der Unterschied zwischen Versuch I und II, was besonders dadurch charakteristisch ist, daß der Quotient $\frac{\text{erzeugte CO}_2}{\text{verbrauchte O}}$ so wesentlich verschieden ist. Betrachtet man nun das kohlenstoffliefernde Nährmaterial, so findet man, daß bei I allein die Nukleinsäure, bei II aber auch noch das Glycerin in Betracht kommt. Die auffallend große Kohlensäurebildung im Vergleich zum verbrauchten Sauerstoff bei letzterem Versuch weist sofort darauf hin, daß es sich hier nicht allein um einfache Atmung, sondern auch um Gärungsvorgänge in größerem Maßstabe handelt. (Die Zuckergruppen der Nukleinsäure sind in beiden Versuchen vorhanden, ihre geringe Quantität aber erlaubt, die daraus gebildete CO₂ unberücksichtigt zu lassen.)

Daß Glycerin unter Umständen einer Gärung¹⁾ unterliegt, ist schon des öfteren untersucht worden. Selbst die Natur der Gärprodukte wurde bereits diskutiert, doch fand merkwürdigerweise nirgends die Entwicklung von Kohlensäure eine eingehende Beachtung. Hesses²⁾ Versuche über die gasförmigen Stoffwechselprodukte der Bakterien beschäftigen sich speziell mit der Kohlensäure, doch gestatten die zahlreichen Resultate leider kein Urteil über das Verhältnis der entwickelten Kohlensäure zum verbrauchten Sauerstoff, geschweige denn über die Kohlensäuremenge, die

1) Flügges Mikroorganismen. 1896. Bd. I. p. 245.

2) Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh. Bd. XV. 1893. p. 17 ff.

Auf Gesamtgas berechnet			Ver- braucher O	Erzeugter N	Erz. CO ₂ Verbr. O	
CO ₂	ccm O	N				
28,2	31,2	515,6	36,0	262,8	0,78	Durch Temperaturschwank. unbrauchb.
24,0	28,7	521,4	42,0	279,6	0,59	
288,4	14,1	847,5	153,9	210,5	1,57	
288,0	11,6	850,4	156,4	215,5	1,84	
17,2	0,0	97,8	24,2	7,0	0,71	
19,7	0,6	105,4	25,8	6,1	0,76	

event. aus dem Glycerin seines Nährbodens (Glycerinagar) durch Vergärung entstanden sein kann. Eine Unterscheidung zwischen Atmungs- und Gärungskohlensäure ist demnach nicht möglich.

Unsere Versuche I und II beweisen, daß Gärungskohlensäure vorhanden sein muß, die keinen Luftsauerstoff erfordert; denn es ist mehr CO₂ gebildet worden, als bei einem Atmungs-(Oxydations-)vorgange dem eingeatmeten Sauerstoff unter den gegebenen Verhältnissen entspricht. Jedenfalls ist der Ueberschuß an Kohlensäure auf Vergärung des Glycerins zurückzuführen.

Bei Versuch Ia hat sich zwischen ausgeschiedener CO₂ und eingeatmetem O ein Verhältnis $\frac{28,2}{36,0} = 0,78$ ergeben, was übrigens dem „respiratorischen Quotienten“ höher organisierter Lebewesen recht nahe kommt.

Von der Voraussetzung ausgehend, daß die Bakterien (wenigstens ein und dieselbe Species) unter denselben Umständen denselben Atmungsquotienten unabhängig vom Nährboden aufweisen (Gärungsvorgänge ausgeschlossen), setzten wir Versuch III und IV an.¹

Als Kohlenstoffquelle diente hier die Milch- und die Asparaginsäure.

Das Verhältnis von gebildeter Kohlensäure zu eingeatmetem Sauerstoff erwies sich in beiden Fällen ganz ähnlich dem bei I gefundenen. — Das Resultat entsprach also unseren Erwartungen.

Auf die Anführung von Schlüssen, die in nicht geringer Anzahl sich aus unseren Versuchen ziehen ließen, wollen wir vorläufig verzichten. Jedenfalls dürfte es von biologischem Interesse sein, auch für andere Bakterienarten diese Verhältnisse festzustellen.

Bezüglich der Ausscheidung von Stickstoff als gasförmiges Stoffwechselprodukt pathogener Bakterien fanden wir in der uns zugänglichen Literatur nur die Mitteilungen von Grimbert¹⁾ und Hugouency und Dogon²⁾. Diese stellten für Typhus- und Colibacillen die Entwicklung freien Stickstoffs aus nitrathaltigen Peptonlösungen fest. Wie unsere Versuche zeigen, bildet sich auch freier Stickstoff aus organischen Verbindungen, ohne daß etwa Nitrate oder Nitrite als Zwischenprodukte nachzuweisen (mittels Diphenylaminreaktion) gewesen wären.

1) Annal. de l'Institut Pasteur. T. XIII. 1899. p. 67.

2) Compt. rend. de la Soc. de Biologie. 1897. p. 198 und 1898. p. 635 und 835.

Die Menge des entwickelten Stickstoffes scheint durchaus abhängig von der Art des zersetzten Nährmaterials zu sein. Jedenfalls besteht keine feste Beziehung zwischen aufgenommenem Sauerstoff und abgegebenem Stickstoff.

Nachdruck verboten.

Weiterer Beitrag zur Lokalisation der Influenza an den Tonsillen.

Von Oberstabsarzt Dr. **Ludwig Kamen**,

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums des k. und k. Militär-Sanitätskomitees.

Mit 2 Figuren.

In meiner im Centralblatte für Bakteriologie. Bd. XXIX. 1901 erschienenen Publikation „Ueber eine bis jetzt wenig gewürdigte Lokalisation des Influenzaprozesses“ habe ich die Aufmerksamkeit auf eine Form von Angina gelenkt, bei welcher zweifellos die krankhaften Erscheinungen auf eine primäre Ansiedelung von Influenzabacillen an den Tonsillen zurückzuführen waren.

Ich bin in der Lage, nunmehr den damals mitgeteilten 2 Fällen einen dritten anzufügen, welcher einen noch schlagenderen Beweis für diese Lokalisation des Influenzaprozesses liefert.

Für die freundliche Abtretung der klinischen und pathologisch-anatomischen Daten dieses Falles sage ich auch hier den Herren Abteilungschefarzt und Dozent Sta. Pick und Prosektor R.A. Brosch meinen besten Dank.

Die Krankengeschichte des betreffenden Falles ist eine kurze. Dragoner Bernhard M. wurde am 29. Mai d. J. im Garnisonsspitale No. 1 mit einer angeblich plötzlich tags vorher, während der Mann auf Wache stand, entstandenen Parese des linken Facialis und der linken unteren Extremität, sowie vollständiger Lähmung des linken Armes aufgenommen. Sehnenreflexe gesteigert, Sensibilität intakt.

Die Untersuchung mit dem Augenspiegel ergibt eine leichte Rötung und Schwellung der nasalen Hälfte der rechten Papille.

Verlässliche anamnestiche Daten konnten bei dem stark benommenen Sensorium des Mannes nicht eruiert werden. Eine Nachfrage bei dem Chefarzte des Truppenkörpers ergab, daß der Mann niemals krank war, nach Aussage seiner Kameraden in diesem Winter einmal mit verbundenem Halse herumgegangen sein und 2 Tage vor seiner letzten Erkrankung über Halsschmerzen geklagt haben soll.

Schon am 31. Mai stellen sich schwere Störungen des Bewußtseins, sowie anderweitige Lähmungserscheinungen ein.

Am 1. Juni die Reflexe erloschen; gegen Mittag treten tonische und klonische Krämpfe in den Extremitäten auf, Anästhesie der Haut, zeitweiser Austritt des Mageninhalt, stertoröses Atmen. Dauer des Anfalles 3 Stunden. Eine halbe Stunde später ein neuerlicher Anfall, welcher den Exitus letalis herbeiführt.

Obduktion 20 Stunden post mortem. Der Befund lautet auszugsweise, wie folgt:

Das Schädeldach länglich-oval, ziemlich dick, spongiös. Die Dura gespannt, etwas stärker adhärent, blutreich. Im Sichelblutleiter flüssiges

und geronnenes Blut. Die Pia mäßig blutreich, zart, mäßig durchfeuchtet. Die ganze rechte Hirnhälfte zeigt stark abgeplattete Windungen und verstrichene Furchen. In den Kammern, namentlich in den Seitenventrikeln trübe, seröse Flüssigkeit. Ependym leicht maceriert. Auf einem Horizontalabschnitte im Bereiche des Linsenkerns und der inneren Kapsel zeigt sich die letztere etwas medial verdrängt, die umgebende Marksubstanz auffallend weich und stellenweise, namentlich im Bereiche der äußeren Kapsel, gelblich verfärbt und ödematös durchtränkt. Die Zeichnung der Gehirnganglien ist im Vergleiche zur linken Hälfte rechts undeutlicher. Frontalschnitte durch die obere Hälfte der rechten Hemisphäre ergeben im Bereiche des Scheitellappens ungefähr entsprechend der Mitte beider Zentralwindungen einen circa nußgroßen, mit mißfarbigem, graugrünlichem Eiter erfüllten Absceß, dessen Wandung bereits eine deutliche pyogene Membran zeigt, der nach oben fast bis an die Zentralwindungen, nach unten bis zum Dach des rechten Seitenventrikels und zu dem Linsenkern reicht, während er nach vorn und hinten in die weiche, gelblich gefärbte, ödematöse Hirnsubstanz des Hinter- und Stirnlappens übergeht. Die Brücke und die Pedunculi sind weich mit deutlicher Zeichnung; Kleinhirn und die linke Großhirnhemisphäre ziemlich fest mit deutlicher Schichtung in der Rinde, von mittlerem Blutgehalte, mäßig durchfeuchtet. Medulla blaß, weich.

In den Blutleitern der Basis geronnenes und flüssiges Blut.

Die rechte Tonsille stark geschwollen, im Zentrum einen bohnen großen, gelblichen Eiter führenden Absceß zeigend.

Die linke ebenfalls mit kleinen Eiterpföpfchen besetzt.

Die bakterioskopische Untersuchung des Inhaltes der beiden Abscesse ergab zunächst, daß während im Eiter des Gehirnabscesses nur Streptokokken, in jenem des Tonsillarabscesses nur und zwar sehr reichlich, kleine influenzaartige Stäbchen nachgewiesen werden konnten.

Behufs Kultivierung der fraglichen Mikroorganismen wurden von beiden Eitern Agar, Serumagar und Blutagarplatten, in der Weise angelegt, daß zunächst je eine Oese Eiter in 2 ccm Bouillon sorgfältig emulgiert und von dieser Emulsion 1—2 Oesen voll auf die Platten ausgestrichen wurden.

Die Gehirnplatten zeigten ausschließlich zahlreiche Kolonien von Streptokokken.

Die mit dem Tonsillareiter beschickten Agar- und Serumagarplatten wiesen einige Streptokokkenkolonien auf; die Blutagarplatte hingegen einen üppigen dichten Rasen von Influenzokolonien mit einigen wenigen dazwischen eingestreuten Streptokokkenansiedelungen.

Einen ganz analogen Befund bot die Untersuchung der Schnitte. Die beiden Organe wurden nach Fixierung in Formol und Härtung in Alkohol in Celloidin, die Tonsille auch in Paraffin eingebettet.

In den Gehirnschnitten konnten nur Streptokokken (Färbung nach Löffler und nach Gram), in den Tonsillenschnitten (Färbung nach Pfeiffer, Gram), ausschließlich Influenzabacillen nachgewiesen werden.

Die Zeichnungen Fig. 1 und Fig. 2, welche mit Zugrundelegung von Photogrammen angefertigt wurden, geben das getreue Bild von zwei Stellen eines Paraffinschnittes wieder.

An diesen Schnitten sieht man, daß der Absceß in einer Krypte entstanden ist; das die Wand derselben verkleidende Epithel ist zum Teil mit einer Eiterschicht bedeckt, teils an einzelnen Stellen, wo die Eiterzellen in das adenoide Gewebe eindringen, von diesen durchbrochen.

Influenzabacillen sind massenhaft vorhanden und zwar in der Eiterschicht (Fig. 1) zumeist endocellulär, und dort, wo die Eiterung in das Epithel eindringt, auch frei in großen Haufen (Fig. 2).

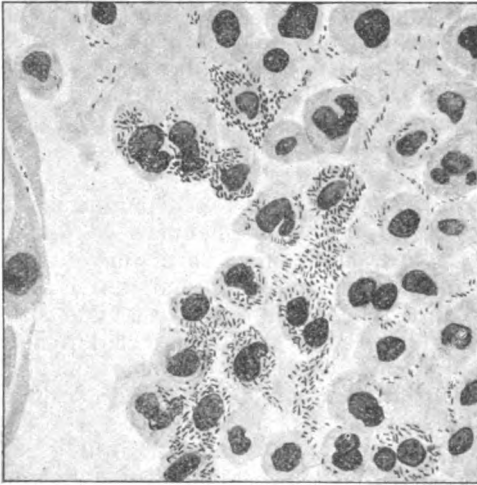


Fig. 1.

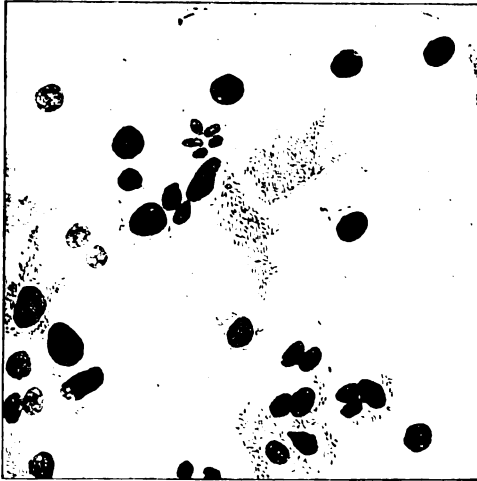


Fig. 2.

Wir haben es demnach in diesem Falle mit einem älteren, durch Streptokokken erzeugten Gehirnabsceß und einem von ersterem unabhängig wenige Tage vor dem Exitus entstandenen Influenzatonillarabsceß zu tun.

Die Färbung der Schnitte nach Gram-Weigert ergab weder das Vorhandensein grampositiver Kokken noch von Fibrin. Die in der Kultur gewachsenen spärlichen Streptokokken können möglicherweise bei der Sektion, bei welcher die Eröffnung des Tonsillarabscesses ohne irgend welche Vorsichtsmaßnahmen erfolgte, in den Inhalt desselben hineingelangt sein.

Wir können daher wohl mit Sicherheit annehmen, daß während der Gehirnabsceß auf eine Infektion mit Streptokokken zurückzuführen ist, der Tonsillarabsceß mit Rücksicht auf den mikroskopischen Befund (insbesondere die ausgesprochene Phagocytose) und das Kulturergebnis der Ansiedelung von Influenzabacillen an der Tonsille seine Entstehung verdankt.

Die Frage nach einem etwaigen Zusammenhang dieser beiden Abscesse dürfte zu verneinen sein. Die pyogene Membran des Gehirnabscesses verrät uns, daß derselbe jedenfalls älteren Datums ist, während die ausgezeichnete Färbbarkeit sowohl der Kerne der Eiter- als auch der Epithelzellen und der Influenzabacillen auf eine kurze Dauer der Tonsillaraftion hinweist.

Nachdruck verboten.

Pomeranzenfarbiger Schweiß.

Von Prof. Dr. C. O. Harz, München.

Ueber farbigen, insbesondere blutigen Schweiß berichten bereits Schriften des Altertums; aber erst in neuerer Zeit hat man die Ursache dieser eigentümlichen Erscheinungen erkannt.

V. Babes¹⁾ erwähnt 2 Fälle von blutschwitzenden Kranken: Einen jungen, übrigens kräftigen Mann und 2 Mädchen. Bei letzteren, Schwestern, zeigte sich dieser Schweiß unter der rechten Achselhöhle in solchem Grade, daß sich ihre Weißwäsche so rot färbte, als wenn sie tatsächlich Blut schwitzen würden. Als Ursache erkannte Babes den *Bacillus prodigiosus*, den bekanntesten Organismus des Hostienblutes.

Bizio²⁾ und Hofmann³⁾ beobachteten einen blauen Schweiß, welcher Indigo enthielt, und wahrscheinlich auch von einem Mikroorganismus hergerührt haben dürfte.

Im nachstehenden kann ich von einem rotgelben oder pomeranzenfarbigen menschlichen Schweiß berichten.

Ich erhielt vor einiger Zeit durch Vermittelung eines Freundes einige Haare aus der Achselhöhle eines mir übrigens nicht zu Gesicht gekommenen, angeblich jungen, kräftigen Mannes, welcher derart an farbigem Schweiß litt, daß die Leibwäsche eine intensiv rotgelbe bis ockerfarbige Tinktion erfuhr. Sonstige Uebelstände oder unangenehme Nebenerscheinungen, als Jucken der Haut, Ausschlag, Geruchsentwicklung oder dergl. sind nicht beobachtet worden, trotzdem dieser Farbenschweiß schon seit einigen Jahren bestanden hatte. Ich empfahl tägliche Waschungen mit *Spiritus saponatus* unter Zusatz von 1-proz. Salicylsäure, habe indessen über etwa erzielte Erfolge seitdem nichts mehr in Erfahrung bringen können.

Die mir zugekommenen derben Haare waren rotbraun gefärbt, brüchig, leicht zerreißbar und mit einer teilweise polsterförmigen dunkelroten Zoogloeamasse überzogen, die bis zu 0,25 mm Mächtigkeit erlangte. Der Spaltpilz war dabei bis ins Haarinnere gedrungen.

Mit Wasser ließen sich die Kolonien leicht zerreiben und nun zur Anstellung von Plattenkulturen verwenden. Es resultierten neben einigen farblosen bzw. weißen hauptsächlich blaßgelbe, rundliche, scharf und glatt berandete Kolonien, die langsam und erst nach 8—10 Tagen in Rotgelb sich verfärbten. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Auch auf schiefe erstarrten Gelatine- und Agarnährböden erfolgte selbst bei 28—30° C sehr langsames Wachstum. In Stiehkulturen bleibt der Organismus blaß, an der Oberfläche bei Sauerstoffzutritt verfärbt er sich alsbald, wird erst blaßgelb, zuletzt orange.

In Nährbouillon tritt eine anhaltende Trübung ein, langsam bildet sich ein anfangs weißer, später blaßgelblicher Bodensatz, während sich an der Oberfläche ein blaßgelblicher Rahmbeschlag an der Glaswandung absetzt.

Am kräftigsten, wenn auch nicht allzu rasch entwickelt sich dieser chromogene Organismus auf gekochten Kartoffelscheiben bei 28 - 30° C.

1) Vom roten Schweiß. (Biolog. Centralbl. Bd. II. 1882 S. 3. p. 255.)

2) Sitzungsber. d. k. k. Wiener Akad. Bd. XXXIX. p. 33.

3) Wien. med. Wochenschr. 1873. p. 292.

Es bilden sich hier ausgebreitete gold- bis kadmiumgelbe, scharf umschriebene, bis zum Rande gleichfarbige Rasen, die sich da und dort zu Höckern und Polstern erheben.

Diesen entnommene linsen- bis erbsengroße Proben werden durch Wasser schon bei gewöhnlicher Temperatur, ebenso durch Ammoniakwasser entfärbt, ohne daß jedoch die darüber stehende Flüssigkeit gelbt erscheint. Konzentrierte Schwefelsäure bewirkt rasch blaugrüne Verfärbung.

Der gelbe Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Schwefel-, Essig- und Petroleumäther, in Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Toluol und Xylol.

Der Erzeuger dieses orangefarbenen Pigmentes, den ich als *Bact. auratum* n. sp. bezeichnen möchte, zeigte in Bouillon und anderen wässrigen Flüssigkeiten, auch in Agarkondenswasser, sowohl bei gewöhnlicher Temperatur als bei 28—30° C, keine Bewegung. Scheinbar sehr unregelmäßig gestaltet und ungleich lange Stäbchen bildend, erkennt man mit Zeiss' Aplanochromat 2,0 mm, Apert. 130, homog. Immers. und den starken Okularen, daß hier ovale Kurzstäbchen von 0,4—0,5 μ Länge und kaum 0,3 μ Breite vorliegen, welche, bald einzeln, bald gepaart oder zu 4—6 aneinandergereiht, 0,8—3 μ lange Stäbchen bilden. Letztere erscheinen bei schwächeren Vergrößerungen fast biskuit- oder streptokokkenähnlich, rosenkranzförmig. Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Nachdruck verboten.

Die Bakteriologie des Paratyphus.

Von Dr. Heinrich Kayser,

zur Zeit Assistenzarzt der medizinischen Universitätsklinik zu Straßburg i. Els.

Unter Paratyphus versteht man eine typhusähnliche akute Infektionskrankheit, welche durch typhusähnliche (s. unten), zwischen *Bacterium coli commune* (Escherich) und dem *Bacterium typhi abdominalis* (Eberth-Gaffky) stehende Erreger bedingt wird.

Die große Zahl der bisher beschriebenen Paratyphusbakterien — bisweilen nicht als solche bezeichnet — läßt sich nach den Untersuchungen von Schottmüller, Bruns und Kayser, Brion, sowie Zupnik u. a. auf 2 Typen zurückführen. Von Brion und Kayser rühren die ersten Zusammenfassungen des Materials her; sie scheiden *Bacterium paratyphi* des Typus A und Typus B.

Die Paratyphusbakterien (beide Typen) sind lebhaft bewegliche, starke Kurzstäbchen. Sie färben sich nicht nach Gram. In tierischen Geweben bieten sie nach kurzer Behandlung mit Anilinfarben intensiv tingierte Polkörper (Eiter, Milzgewebe, Blut). Das Temperaturoptimum liegt bei 37° C. Die Gelatinekolonien haben keine Oberflächenfurchung; sie sind kreisrund, leicht grau, fast farblos (Typus A) oder weißlich und dicker (Typus B) glänzend, in der Jugend irisierend. Der Gelatinestrichkultur fehlt für Wochen nach der Reinzüchtung aus Krankenmaterial das rasche Breitenwachstum der Typhus- und Colibakterien. Neutralrotagar (Schüttelkultur nach Rothberger) kommt rasch zum Fluorescieren und wird schließlich aufgehellt. Indol wird in der Bouillon nicht gebildet. Beide Typen geben die Proteïnchromreaktion nach 2 Tagen, ebenso wie *Bacterium typhi*

abdominalis und im Gegensatz zu *Bact. coli commune* (nach Erdmann und Winternitz). Auf Drigalski-Conradischen Platten (Milchzucker-, Lackmus-, Nutrose-Agar) wachsen blaue Kolonien. Milch wird nicht koaguliert, dagegen kommt es zur Vergärung verschiedener Zuckerarten (Dextrose und Maltose). In muskeltuckerfreier 2-proz. Laktose-Bouillon findet nur durch den Typus B eine beträchtliche Gasbildung statt. Auf allen Nährmedien wächst der Typus B viel üppiger als Typus A des *Bacterium paratyphi*.

Weitere Unterscheidungsmerkmale zwischen den beiden Typen sind: Die Kartoffel überzieht der Typus B mit einem graubraunen, dicken Belag, der Typus A bleibt meist fast unsichtbar. Lackmusalb, zunächst von beiden Typen angesäuert, wird von der 2. Woche ab durch Typus B alkalisch gemacht. Milch hellt Typus B im Laufe von Wochen fast völlig auf, der Typus A verändert sie nicht sichtbar.

Pathogenität ist für weiße Mäuse und Meerschweinchen vorhanden. Die Bakterien des Typus A enthalten nach Brion und Kayser Gifte, welche in der Nährbouillon nicht löslich und ziemlich hitzebeständig sind. F. Kempf stellte unter E. Levy fest, daß weiße Mäuse der Infektion mit Typus A per os unter enteritischen Erscheinungen erlagen. Korte verfütterte Typus B, ohne daß weiße Mäuse und Meerschweinchen Schaden litten. Hämolyse bildete Brion-Kaysers Stamm (Typus A) nicht. Es wurden pyogene Eigenschaften bei ihm gefunden. Den Einfluß der Paratyphusinfektion auf die farblosen Blutelemente (Leukopenie, dann Lymphocytose und Eosinophilie) beschreibt C. Gütig.

Wie kulturell, so stellt auch bezüglich der Agglutininempfindlichkeit jeder der beiden Typen des *Bacterium paratyphi* eine Einheit dar, was aus den Arbeiten von Schottmüller, Brion-Kayser, de Feyfer-Kayser, L. Zupnik, und besonders von Bruns-Kayser hervorgeht (s. auch W. Hoffmann).

Damit ist gesagt, daß ein spezifisches Immuneserum, erzeugt durch einen der bekanntesten Typen des *Bacterium paratyphi*, alle Vertreter dieses Typus in gleicher Stärke zur Agglutination bringt, doch nur falls sie ein gewisses Laboratoriumsalter hinter sich haben; denn es ist möglich (wie dies schon für die Typhusbacillen von Gruber u. a. aus Beobachtungen heraus behauptet, und von P. T. Müller experimentell nachgewiesen wurde), daß frischvirulente, eben aus Tier oder Mensch gezüchtete Paratyphusbakterien für die ersten paar Kulturgenerationen künstlichen Lebens ihre spezifische Agglutinibilität eingebüßt haben.

Selbstverständlich agglutinierten Seren von Paratyphuspatienten alle Paratyphusbakterien ihres Typus und zwar unter Umständen in Verdünnungen bis zu vielen Tausenden (1:40 000 R. Stern.)

In vielen Fällen von Paratyphus fehlt die Gruber-Widalsche Reaktion auf Typhusbacillen. Ist der Agglutinationstiter des Krankenserums für sein Paratyphusstäbchen ein sehr hoher, so kommt es infolge von Gruppen- oder Familienagglutination (Pfaundler) sowohl zur Mitbeeinflussung der Typhusbacillen als auch der Paratyphusbakterien des anderen Typus (Brion-Kayser, Bruns-Kayser, de Feyfer-Kayser, L. Zupnik, R. Stern, Korte), denn es besteht „ein Parallelismus zwischen dem Agglutinationstiter eines Immuneserums und der Ausdehnung der Gruppenagglutination auf Verwandte des Bakteriums, gegenüber welchem das Agglutinationsvermögen hervorgerufen wurde“ (Bruns, Kayser, auch Pfaundler, Jatta, L. Zupnik).

Man kann daher durch die Agglutinationsprobe einigermaßen sichere Diagnosen von Paratyphus (und Typhus) nur dann stellen, wenn man sowohl mit dem *Bacterium typhi* als den bekannten Typen des *Bacterium paratyphi* das Serum geprüft und für jedes Stäbchen das Agglutinationsmaximum ermittelt hat (Bruns-Kayser, R. Stern Posselt).

Ausschließliche rasche makroskopische Agglutination eines Typus vom *Bacterium paratyphi* mindestens im Verhältnis 1:75 kann bei entsprechenden klinischen Erscheinungen das Bestehen eines Paratyphus beweisen. Ich habe nie nach Zusatz menschlichen Normalserums zu Aufschwemmungen oder jungen Kulturen von Paratyphusbakterien auch im Verhältnis 1:30 die geringste Agglutinationswirkung bemerkt. Am besten tut man bei den Launen der Gruppenagglutination, die Suche nach dem Infektionserreger in Blut, Urin und Stuhl zu beginnen, sobald ein bestimmter Verdacht durch den Ausfall der Agglutinationsprobe geweckt worden ist.

Bei der Differentialdiagnose kommen besonders die coliverwandten Fleischvergiftungsbakterien in Betracht (Bruns-Kayser, van Ermengem). Van Ermengem und de Nobele trennen bekanntlich 2 Typen dieser Fleischvergiftungsbakterien.

Praktisch wichtig sind die Grenzzahlen für die zulässigen Agglutinationstiter bei Immunsereen, die zur raschen serodiagnostischen Identifizierung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe Verwendung finden sollen. Auf Grund ihrer Gruppenagglutinationsversuche mit einer Reihe spezifischer Immunsereen geben Bruns-Kayser an, daß der Agglutinationstiter für das dem serumspendenden Tier (Kaninchen) einverleibte *Bacterium* am besten 1:1000 nicht überschreitet (mikroskopische Probe), wenn der schnelle positive Ausfall der makroskopischen Agglutinationsprobe nach einem Serumzusatz 1:100 als identifizierend bei einer Bakterienbestimmung gelten soll.

Nach den oben zitierten Arbeiten und neuen Feststellungen Brions u. a. gehören zum Typus A des *Bacterium paratyphi* 2 Fälle Schottmüllers, Brion-Kaysers Fall, 1 Fall Zupnik-Posners und die von Gwyn, Cushing, Colemann-Buxton, Johnston (Fall 2), Hewlett und vielleicht Hume, Sion-Negel, Grünbaum; zum Typus B 5 andere Fälle Schottmüllers und solche von Kurth, Achard-Bensaude, Widal-Nobécourt, Hünermann, Kayser, Zupnik, F. Lucksch, Korte, die Epidemie de Feyfer-Kaysers, und die von Conradi-Drigalski-Jürgens. (Die letzten 3 Autoren gebrauchten allein den historisch und sachlich nicht zu rechtfertigenden Ausdruck „Typhoid“ für ihre Fälle.) In jüngster Zeit hat noch Musehold (XV. Armeekorps, Straßburg) aus einer Anzahl Fälle des *Bacterium paratyphi* B reingezüchtet.

Agglutiniert ein Patientenserum mehr als ein *Bacterium* in erheblichem Maße und liegen die Agglutinationsmaxima der beeinflussten Stäbchenarten nahe beieinander, so ist nach dem Bestehen einer Mischinfektion zu fahnden, desgleichen bei längerem Ausbleiben des Paratyphus- und Typhus-Agglutination in Fällen von klinischem Typhus (Kayser). Mit Hilfe der getrennten Agglutininsättigung (Castellani'scher Versuch) konnten de Feyfer-Kayser in einem Falle die Diagnose „Mischinfektion durch Typhus- und Paratyphusbakterien“ am Krankenbett stellen (Fall 13 der Epidemie). Im Gegensatz zum Verhalten bei Mischinfektion erlischt im Falle von Gruppenagglutination

die zusammenballende Kraft allen beeinflussten Bakterien gegenüber, wenn die Agglutinine des Serums mit dem höchstbeeinflussten Bakterium gesättigt werden. Auf eine hierher gehörende kürzliche Arbeit Jürgens, aus deren mitgeteilten Resultaten ich nicht immer dieselben Schlüsse wie Jürgens ziehe, gedenke ich demnächst einzugehen.

Hygienisch-sanitär sollte der Paratyphus ebenso wie der Typhus abdominalis behandelt werden (de Feyfer-Kayser).

Literatur.

- 1) Schottmüller, H., Deutsche med. Wochenschr. 1900. p. 511 und „Weitere Mitteilungen etc. (Paratyphus)“. (Zeitschr. f. Hygien. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. p. 368.)
- 2) Brion, A. u. Kayser, H., Ueber eine Erkrankung etc. (Paratyphus). (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 15.)
- 3) Brion, A., Der Paratyphus. (Die deutsche Klinik v. Leyden-Klemperer Bd. II. Infektionskrankh.)
- 4) Bruns, Hayo u. Kayser, H., „Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomeus. (Paratyphus). Zur klin. Diagnose u. Identif. v. Bakterien etc. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLIII. 1903. p. 401—425.)
- 5) Zupnik, L. u. Posner, O., Typhus und Paratyphus. (Prager med. Wochenschr. 1903. No. 18.)
- 6) Kayser, H., Das Wachstum der zwischen B. typhi und coli stehenden Spaltpilze auf Drigalski-Conradi-Böden etc. („Paratyphus“). (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XXXI. 1902. p. 426.)
- 7) Erdmann, P. u. Winternitz, H., Ueber das Proteinochrom, eine klinische und bakteriologische bisher nicht verwandte Farbreaktion. (Münch. Med. Wochenschr. 1903. No. 23.)
- 8) Kempff, F., Zur Biologie des Bact. paratyphi (A). Inaug.-Diss. bei E. Levy. Straßburg i. Els. 1903.
- 9) Kayser, H., Ueber Bakterienhämolsyne, im besonderen das Colilysin. (Zeitschr. f. Hygien. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1902. p. 118 ff. 138.)
- 10) Gütig, C., Leukocyten bei Paratyphus. (Prag. med. Wochenschr. 1903. No. 18.)
- 11) de Feyfer, F. u. Kayser, H., Eine Paratyphus-Endemie. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 41/42) und Over een ziekte etc. (Paratyphus). (Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1902. Deel. II. No. 25.)
- 12) Hoffmann, W., Zur Frage des Paratyphus. (Hygien. Rundschau 1902. Heft 17.)
- 13) Gruber, Beitrag zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. 1897. p. 436.)
- 14) Müller, P. T., Ueber die Immunisierung der Typhusbacillen gegen spezifische Agglutinine. (Münch. med. Wochenschr. 1903.)
- 15) Stern, R., Ueber den Wert der Agglutination etc. [Vortrag.] (Referat. Allg. med. Zentral-Ztg. 1903. No. 5.)
- 16) Jatta, M., Experimentelle Untersuchung über die Agglutination etc. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXIII. 1900.)
- 17) van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kollie u. Wassermann. 1903. p. 637 ff.)
- 18) de Nobele, Du sérodiagnostic dans les affections gastrointestinales d'origine alimentaire. (Annal. sociét. méd. Gand. 1899 u. 1901.)
- 19) Gwyn, Johns Hopk. Hosp. Bull. 1898. (Paratyphus.)
- 20) Cushing, Johns Hopk. Hosp. Bull. 1900. (Paratyphus.)
- 21) Colemann-Buxton, Amer. Journ. of med. Sc. 1902. („Paratyphoid Infect.“)
- 22) Johnston, Amer. Journ. of med. Sc. 1902. August. (Paratyphus.)
- 23) Hewlett, ibid. (Paratyphus.)
- 24) Hume, H., ibid.
- 25) Sion u. Negel, Ueber eine von einem atypischen Colibacillus veranlaßte typhusähnliche Hausepidemie etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. p. 481, 581, 679.)
- 26) Grünbaum, British Medic. Journ. Sept. 20. 1902.
- 27) Meltzer, J., „Paratyphus.“ (New. med. Monatsschr. 1901. Dez. Ref. Fortschr. med. Bd. XX. 1902.)
- 28) Kurth, Ueber typhusähnliche durch einen bisher nicht beschriebenen Bacillus bedingte Erkrankungen. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 30/31.)
- 29) Achard et Bensaude, Soc. méd. des Hôp. de Paris Nov. 1896.
- 30) Widal et Nobécourt, Semaine médicale. 1897.

- 31) Hünemann, Zeitschr. f. Hygien. u. Infektionskrankh. Bd. XL. p. 522.
- 32) Conradi-Drigalski-Jürgens, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XL.
- 33) Jürgens, G., Beobachtungen über die Widalsche Reaktion etc. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLIII. Heft 2.)
- 34) Kayser, H., Ueber den Paratyphus. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 18.)
- 35) Korte, W., Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. p. 243 ff.)
- 36) Posselt, A. u. v. Sagasser, R., Ueber Beeinflussung der Agglutinine. (Wiener klin. Wochenschr. 1903. No. 24.)
- 37) Lucksch, F., Ein Beitrag zur pathologischen Anatomie des Paratyphus. (Dieses Centralbl. Bd. XXXIV. 1903. No. 2. p. 113 ff.)
- 38) Kayser, H., Die Gruber-Widalsche Probe bei Mischinfektion etc. (Arch. f. Hyg. 1903.04.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage vom Verhalten verschiedener Gewebe des tierischen Organismus gegen das Tetanusgift.

[Aus dem Laboratorium der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.]

Von Dr. A. Ignatowsky aus St. Petersburg.

(Schluß.)

V.

Entgiftung des Tetanusgiftes durch verschiedene Organsubstanzen.

Bei den folgenden Versuchen wandte ich ein Verfahren an, bei welchem ich von der früher beschriebenen Anordnung etwas abwich. In gleicher Weise wie früher zerkleinerte Organe wurden nicht mehr mit Gift, sondern mit sterilisierter physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Toluol vermischt. In dieser Lösung wurden die Organe geschwemmt und mehreremal zentrifugiert. Auf diesem Wege wurden sie von fremden Bestandteilen und Blut befreit und desinfiziert. Nach dieser Prozedur stellte die Mischung von geschwemmter Organsubstanz und sterilisierter physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion vor, die zur Füllung der Pravazschen Spritzen taugte. Dank der vorhandenen Übung, war es für mich nicht schwer, Emulsionen von gleicher Dichtigkeit herzustellen, wovon ich mich durch Wägung verschiedener Emulsionen von gleichem Volumen überzeugen konnte. Darauf wurden die fertigen Emulsionen in bestimmten Mengen mit Tetanotoxin vermischt, dessen Stärke durch vorherige subkutane Injektion an Mäusen festgestellt worden war. Diese Mischung ließ ich einige Stunden in sterilisierten Probiergläsern stehen und machte mit ihr nachher Einspritzungen. Außer Organsubstanz wurden den Mäusen gleiche Dosen von Giftlösung mit Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung bis zu dem Volumen, welches die Emulsion von Organsubstanz hatte, injiziert. Die Resultate sind in der Tabelle No. 4 dargelegt.

Daneben stellte ich mehrere Versuche an, um die Wirkung des Gehirns auf das Gift, welches in den Organismus unabhängig von der Emulsion eingeführt wurde, zu studieren. 3 Mäusen wurde eine Gehirn-emulsion (0,5 ccm) in eine Seite injiziert und 3 Stunden darauf eine 3-fach tödliche Dose Gift in die andere Seite. Anderen 3 Mäusen wurden gleichzeitig in eine Seite Emulsion, in die andere Gift injiziert, einer 3. Partie wurde zuerst das Gift eingespritzt und 3 Stunden später die

Tabelle 4.
 Lebensdauer nach der Injektion in Stunden.

Nummer	Organe von	Anzahl der tödlichen Dosen	Quantität der Ph. n.-Organemulsion	Gehirn	Rückenmark	Leber	Niere	Muskulatur	Milz	Pankreas	Blut	Gift allein
I	Kaninchen	5	0,5	144 (2)	72	66	66	54	114			37
				ges. (1)								
II	Meerschweinchen	5	0,5	132	64	44	44	60				39
				ges. (2)								
III	Huhn	5	0,3	168 (3)	64	44	44	60			44	38
				ges. (2)								
IV	Kaninchen	3	0,4	192 (3)	156	132	60	84	ges.	56		36
				ges. (1)								

Bemerkung: Die kleinen Ziffern in Parenthese geben die Zahl der Mäuse an.

Emulsion. Die Dosen von Gift- und Gehirnemulsion waren in allen 3 Fällen gleich groß. Das Resultat der Versuche war, daß alle Mäuse um dieselbe Zeit verendeten wie die Kontrollmäuse.

Ihrer Anordnung nach stellen alle Versuche gewissermaßen Wiederholungen der Wassermann-Takakischen Untersuchungen vor. Nach ihrer Meinung ist 1 g Gehirnemulsion im stande, eine 10-fach tödliche Dose des Tetanusgiftes zu neutralisieren. Eine Rückenmarkemulsion von derselben Quantität vermag nur die 3-fach tödliche Dose von Tetanotoxin zu neutralisieren. Die anderen Organe üben nach Wassermann und Takaki keine Wirkung aus. Unsere Versuche ergaben, daß 1) die Wirksamkeit des Gehirnes eine etwas kleinere war als in den Wassermannschen Versuchen. 2) alle Organe dieselbe Fähigkeit nur in geringerem Grade als das Gehirn besitzen, und die Milz des Kaninchens an Wirkung das Rückenmark noch übertrifft und dem Gehirn am nächsten steht. 3) Gehirn und Rückenmarksubstanz üben nur bei vorheriger Mischung eine neutralisierende Wirkung auf das Tetanusgift aus, nicht aber bei getrennter Einspritzung.

Der interessante Befund, den die Versuche mit Milzemulsion ergaben, findet eine Parallele in dem Versuche Kondratjeffs (14). Er fand schon vor uns, daß der Extrakt von Milz die tödliche Wirkung des Tetanusgiftes zu hemmen im stande ist. Auf die Bedeutung der Milz für die Tetanusvergiftung machen Tizzoni und Cattani (23) aufmerksam. Dieselben beobachteten stets, daß Kaninchen, denen die Milz extirpiert wurde, im Gegensatz zu den normalen gegen Tetanus nicht immunisiert werden können.

Was das Blut betrifft, so steht fest, daß seine Rolle bei der Neutralisierung des Giftes unbedeutend ist. Das Blut des Huhnes, eines von Natur gegen Tetanus immunen Tieres, bildet in dieser Beziehung keine Ausnahme. Diese Folgerung stimmt vollkommen mit den Ergebnissen der Untersuchungen Vaillards überein, welcher fand, daß das Blut vom Huhn und auch dessen Blutserum in verschiedenen Dosen mit dem Tetanusgift vermischt, niemals im stande war, bei empfänglichen

Tieren den Ausbruch des Starrkrampfes in der Form, wie er bei den Kontrolltieren, denen nur Tetanusgift injiziert wurde, aufzutreten pflegte, zu verhindern.

Der Ausfall der mit Hirnemulsion *in vitro* et *in vivo* angestellten Versuche ist dahin gedeutet worden, daß die neutralisierenden Stoffe des Nervengewebes eine rein lokale Wirkung bei unmittelbarem Kontakt mit dem Gift ausüben. Marie (21) und Metschnikoff (22) sind der Ansicht, daß das Antitoxin des Nervengewebes sich im Organismus nicht auflöst und in andere Körperteile nicht eindringt, sondern dort bleibt, wo es eingeführt wurde. Metschnikoff beruft sich auf folgende Versuche. Wenn man einem Meerschweinchen unter die Haut des Fußchens an der Bauchseite eine tödliche Dose des Giftes einspritzt und an der Rückenseite Hirnemulsion in einer Dose, die *in vitro* einige tödliche Dosen zu neutralisieren vermag, so gehen die Meerschweinchen trotzdem an Tetanus zu Grunde. Interessant ist eine Vergleichung der Resultate der letztgenannten Versuche mit den Versuchen der vorhergehenden Serie, die mit E.T.-Organ angestellt wurden. Wir erhalten die nebenstehende Tabelle No. 5.

Tabelle 5.

E.T.-Organ	Gehirn	Milz	Muskulatur	Leber	Rückenmark	Niere Lunge	
E.Ph.n.-Organ	Gehirn	Milz	Rückenmark	Muskulatur	Leber Niere	Pankreas	Blut

Beim Vergleichen erweist sich, daß die Konformität der beiden Reihen hauptsächlich durch das Rückenmark gestört wird. Trotzdem will es mir nicht scheinen, daß die Widersprüche in den Daten hinsichtlich des Rückenmarkes nicht von zufälligen Ursachen herrühren. Eine Bestätigung meiner Angaben finde ich in den Zahlenangaben betreffs der Organe vom Huhn. Gestützt auf meine Versuche mit E.T.-Organ (Tab. 1 Versuch 11) darf ich mit Gewißheit sagen, daß Tiere, die eine Einspritzung von E.T.-Organ vom Huhne erhalten haben, rascher zu Grunde gehen als Tiere, denen E.T.-Organ von Meerschweinchen injiziert wurde. Wenden wir uns zu den entsprechenden Versuchen der zweiten Kategorie, wo den Versuchstieren eine Mischung von Toxin und E.Ph.n.-Organ injiziert wurde, so bemerken wir solchen deutlichen Unterschied nicht. Vielleicht besteht hier ein umgekehrtes Verhältnis. In Berücksichtigung des vorstehend Mitgeteilten wäre bezüglich der Organe folgende Annahme weit berechtigter. Gegenüber dem Tetanusgift besitzen die Organe folgende zwei Eigenschaften:

- 1) sie binden das Gift,
- 2) sie neutralisieren es.

Bei normalen Verhältnissen im Leben wirken diese beiden Eigenschaften vereint und unterstützen sich gegenseitig im Bekämpfen des Giftes. Leider tragen sie bei der von uns angewandten Versuchsmethode zur Entstellung der Ergebnisse bei. So z. B. wenn ein Organ der Einwirkung des Giftüberschusses ausgesetzt wird, der mit allen Mitteln erzielt wurde, z. B. bei der Bildung von E.T.-Organ, können wir den Effekt der Gesamtmenge des einverleibten Giftes nicht wahrnehmen, da ein Teil desselben vom Gewebe neutralisiert wird. Umgekehrt stellt sich uns bei dem Versuch, die neutralisierende Wirkung des Organes festzustellen, die Eigenschaft des Organes, das Gift zu binden, in den Weg.

Wenn wir nun eine dieser Ursachen aus dem Wege räumen könnten, träten die Resultate der mit Rückenmark angestellten Versuche vielleicht noch deutlicher hervor, d. h. die Fähigkeit, Gift zu binden, äußerte sich noch bestimmter und vielleicht erwies sich die neutralisierende Wirkung dieses Gewebes als ebenso stark wie die des Gehirnes. Wahrscheinlich also neutralisiert das Rückenmark ebenso stark wie das Gehirn; es bindet nur stärker und schneller, ehe es seine antitoxische Wirkung entfalten kann.

VI.

Die neutralisierende Wirkung einiger im Organismus vorhandener Stoffe auf das Tetanugift.

Angesichts der Tatsache, daß die Gewebe des tierischen Organismus bis zu einem gewissen Grade das Tetanugift neutralisieren, ergibt sich naturgemäß die Aufgabe, festzustellen, welche Stoffe sich in diesem Falle als wichtigste Agentien erweisen.

In Anbetracht der Kompliziertheit dieser Aufgabe und des Umstandes, daß einige Gewebe, wie z. B. das Nervengewebe, in dieser Beziehung hervorragen, ist es am verständigsten, sich vor allen Dingen mit diesem Gewebe zu beschäftigen. Wir nennen einige sehr wichtige Bestandteile des Nervengewebes. So ist z. B. das Protagon ein quantitativ bedeutender Teil der weißen Hirnsubstanz; mehr als die Hälfte der grauen bildet Eiweiß, dann sind darin viele Lecithine und Cholestearin enthalten. Ich beschloß meine Untersuchungen auf diese Stoffe zu richten. Das Protagon gewann ich aus menschlichem Rückenmark nach dem im Handbuch von F. Hoppe-Seyler (7. Auflage, bearbeitet von H. Thierfelder) p. 213 beschriebenen Verfahren. Ich fühle mich Herrn Dr. phil. Wolff, chemischen Assistenten der Klinik, zu Dank verpflichtet für die liebenswürdigst geleistete Hilfe bei der Gewinnung des Protagons und Lecithins. Ich hatte zwei Arten Lecithin. Die eine wurde in der Fabrik von Merk hergestellt, die andere wurde aus Eigelb gewonnen, gleichfalls nach Hoppe-Seyler (p. 157). Das Cholestearin überließ mir Herr Dr. Ferd. Blumenthal. Ich traf folgende Anordnung der Versuche. Das Protagon und Cholestearin wurden als feste Stoffe zu Pulver zerrieben und dann mit einer schwachen Giftlösung vermischt. Die Mischung ließ ich vor dem Gebrauch 12 Stunden stehen. Zur Desinfektion der Mischung wurde Toluol zugesetzt. Das Lecithin (etwas konsistenter als Vaseline) wurde mit dem Gift direkt vermischt (im Ueberschuß). In der Lösung quillt es besonders stark auf, so daß eine Emulsion zu stande kommt. Die Ergebnisse dieser Versuche werden durch die umstehende Tabelle am besten veranschaulicht.

Das Protagon übt auf das Gift keine neutralisierende Wirkung aus. Nach der Injektion mit der Mischung von Protagon und Gift gingen die Mäuse viel rascher zu Grunde als die Kontrollmäuse; die Zeichen von Tetanus waren besonders deutlich ausgesprochen. Dagegen besitzt das Cholestearin und besonders das Lecithin eine bedeutende antitoxische Wirkung. Die günstigen Resultate, die mit Lecithin *in vitro* erzielt wurden, bewogen mich, einen analogen Versuch wie mit dem Gehirn vorzunehmen; einer Maus injizierte ich in eine Seite Gift $1\frac{1}{2}$ tödliche Dosen, in die andere Lecithin. Während die Kontrollmäuse binnen 4 Tagen starben, gingen die Mäuse, in deren Blut Lecithin haftete, erst nach 9 Tagen zu Grunde. Selbstverständlich wandte ich solche Dosen Protagon, Cholestearin und Lecithin an, von denen ich mich

Tabelle 6.
Lebensdauer nach der Injektion in Tagen. Versuche an Mäusen.

Nummer	Anzahl der tödlichen Dosen	Tetanusgift allein	Protagon 0,1/197 auf eine tödliche Dosis	Lecithin					Cholestearin	
				1. Vers. Gesättigte Lösung 0,1 g	2. Vers. 0,005 g auf eine tödliche Dosis	3. Vers. 0,01 g auf eine tödliche Dosis	4. Vers. 0,02 g auf eine tödliche Dosis	5. Vers. 0,02 g auf eine tödliche Dosis, Gift und Lecithin jedes für sich injiziert	2. Vers. 0,003 g auf eine tödliche Dosis	4. Vers. 0,02 g auf eine tödliche Dosis
1	5	1,5		1,5						
2	2	2 1/2			ges.				3,5	
3	1	6	4			7				
4	1,5	4	7			ges.		9		7

experimentell überzeugt hatte, daß sie unschädlich wirkten. Analoge Experimente mit Lecithin und Cholestearin stellten Kempner und Schepilewsky (25) an; sie untersuchten die Wirkung dieser Stoffe auf das Botulismusgift. Die Resultate ihrer Arbeit stimmten mit den unsrigen nahezu überein. Roger et Josué (26) fanden, daß Neurin das Tetanustoxin neutralisiert.

Ich hielt es für überflüssig, diese Behauptung nachzuprüfen, da das Neurin, falls es tatsächlich eine Wirkung auf das Tetanusgift ausübt, diese Fähigkeit dem Umstande verdankt, daß es ein Produkt des Lecithins ist. Dabei ist das Neurin an und für sich sehr giftig.

Wir dürfen also vermuten, daß an der neutralisierenden Wirkung des Nervengewebes gegenüber dem Tetanusgift seine Bestandteile, das Lecithin und Cholestearin, einen Anteil haben.

Speziell, was das menschliche Hirn betrifft, darf nicht vergessen werden, daß die graue Substanz sauer (Neumeister, Lehrbuch der physiologischen Chemie), die weiße, welche hauptsächlich im Rückenmark vorhanden ist, alkalisch reagiert. Die Acidität der grauen Hirnsubstanz kann für das Tetanusgift nicht gleichgültig sein, das gegen Säuren überhaupt sehr empfindlich ist. Demnach kann es uns nicht wunder nehmen, daß die graue Substanz Tetanusgift weit stärker abschwächt als die weiße.

Parallel zu diesen Versuchen beschloß ich zwecks Vergleichung noch einige Experimente mit Verdauungsfermenten vorzunehmen, obgleich deren Wirksamkeit bei Tetanus gegenwärtig zur Genüge bekannt ist. Von besonderem Wert bei der Erörterung dieser Frage ist die Untersuchung von Nencki, Sieber, Schoumowa und Simanowskaja (27). Sie haben nicht nur die Arbeiten älterer Autoren (Ransom) nachgeprüft, sondern auch neue, sehr genaue Untersuchungen angestellt. Schließlich erwies sich, daß der Pankreassaft, obgleich er das Tetanusgift neutralisiert, dabei viel schwächer wirkt als der Magensaft. Bei meinen Versuchen benutzte ich die käuflichen verdauungsfördernden Fermente, die von der Fabrik Merck hergestellt werden. Die Versuche wurden an Trypsin, Pankreatin und Pepsin angestellt. Ich hatte zwei Arten von Pepsin, von denen das eine sehr leicht, das andere schwer löslich war. Ich verfuhr auf folgende Weise: Ein genau gemessenes Quantum des betreffenden Stoffes wurde in einer bestimmten Menge Wasser aufgelöst und darauf mit einer Toxinlösung vermischt. Die Mischung wurde nach Zusatz von Toluol in den Brutschrank gestellt.

Da das käufliche Pepsin sichtlich sauer reagierte, neutralisierte ich eine Portion mit einer schwachen Sodalösung. Gleichzeitig wurden Kontrollversuche angestellt. Einer Partie von Mäusen wurde nur Toxin, einer anderen nur Fermente injiziert. Die letzteren Versuche ergaben, daß das Trypsin bei subkutaner Verwendung das giftigste Ferment ist. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle 7 aufgezeichnet. Es erwies sich, daß sämtliche 3 Stoffe in gewissem Grade das Tetanusgift neutralisieren. Trotz seiner Giftigkeit lieferte das Trypsin die höchste Ziffer der Gesundungen. Neutral reagierende Pepsinlösung wirkt schlechter als saure. Pankreatin wirkt schlechter als Pepsin, obgleich es ein Gemisch aller Fermente der Pankreasdrüse vorstellt. Wenn wir noch die zerstörende Wirkung der Salzsäure auf das Tetanusgift und die der Galle (Nencki, Sieber, Schoumova u. a.) in Betracht ziehen, so erhalten wir eine Reihe von Stoffen, die im Organismus selbst das Tetanusgift unschädlich machen.

Tabelle 7.

Lebensdauer nach der Injektion in Tagen. Versuche an Mäusen.

Nummer	Anzahl der tödlichen Dosen	Tetanusgift allein	Trypsin pro tödliche Dosis T.-Gift			Pankreatin pro tödliche Dosis			Pepsin					
			0,0125 g	0,0015 g	0,01 g	0,0125 g	0,003 g	0,02 g	pro tödliche Dosis			pro tödliche Dosis		
									0,0125 g	0,005 g	0,02 g	—	0,005 g	0,02 g
1	2,5	2 1/2	?			3,5			11					
2	2	2 1/2		g			5,5			g			5	
3	1,5	4			g (2) 14 (1)			12			g			12

VII.

Untersuchung der Organe von an Tetanus gestorbenen Tieren.

Schon a priori ist es ausgeschlossen, daß die Untersuchung der Organe von an Tetanus gestorbenen Tieren dermaßen ausgesprochene Ergebnisse zu stande bringen würde, wie die vorhergehenden. Bei diesen Untersuchungen stoßen wir auf eine Reihe von Hindernissen. Einerseits macht der Organismus jegliche Anstrengung, um das Gift unschädlich zu machen. Wir sahen bereits, daß selbst in vitro alle Organe die Fähigkeit zeigen, bis zu einem gewissen Grade das Gift zu neutralisieren. Selbstverständlich geht die Funktion der Gewebe im lebenden Organismus in weit vollkommenerer Weise vor sich. Auf diese Weise können uns geringe Gift Dosen im Organismus gänzlich entgehen. Andererseits haben wir die Möglichkeit, uns dadurch zu helfen, daß wir willkürlich die Dosen der zu injizierenden Emulsion vergrößern, was nötig ist, da wir mit kleinen Mengen arbeiten müssen in Anbetracht der unzweifelhaften Giftigkeit der normalen Gewebe (s. oben). Schließlich besteht das dritte Hindernis darin, daß das Gift in die Organe durch das sie bespülende Blut tritt. Die Frage, welche zu beantworten ist, ist die, ob die Giftigkeit der Organe nur daher rührt, daß sie Blut enthalten, in dem Tetanusgift zirkuliert, oder ob tatsächlich auch im lebenden Organismus das Gift in eine Verbindung mit der Organzelle tritt.

A. Marie (12) erklärt direkt, daß in Organen von Tieren (Kaninchen), die an Tetanus zu Grunde gegangen sind, das Vorhandensein von Gift nicht nachweisbar sei. Uebrigens stimmen die meisten Autoren mit ihm nicht überein. Der Fall, über welchen Blumenthal berichtet — wir wiesen auf ihn zu Beginn der Arbeit hin — ist ein klarer Beweis dafür, daß das Gift noch im unzerstörten Zustande in Verbindung mit dem Rückenmark stand. Einen analogen Fall teilt Tauber (17) mit. Das Blut eines Tetanuskranken enthielt infolge 7-maliger Injektion von Antitoxin kein Tetanusgift. Trotzdem starb der Kranke. Verf. untersuchte Rückenmark, Gehirn und Leber auf ihren Tetanusgiftgehalt, und es gelang ihm, durch Injektionen des Extrakts von diesen Organen bei Mäusen Symptome von Tetanus hervorzurufen. Wir hatten auch Gelegenheit, einen Tetanusfall zu untersuchen. Das Blut einer Kranken vor der Einspritzung des Serums rief einen heftigen Tetanuskrampf bei Mäusen hervor. Nach einer 2-maligen Injektion von Antitoxin verlor das Blut seine Toxicität. Dieselben Erscheinungen wurden am Harn beobachtet. Eine gewisse Quantität Harn, die noch vor der Serumbehandlung genommen wurde, rief bei Mäusen die charakteristische Form von Tetanus hervor. Nachdem der Kranken Antitoxin injiziert worden war, erwies sich der Harn als ungiftig.

Weiße Mäuse, denen die Emulsion von Organen dieser mit Antitoxin behandelten Kranken injiziert wurden (Hirn, Rückenmark, Leber, Milz, Niere, Gland. thyreoid.), gingen zu Grunde, die einen unter den charakteristischen tetanischen Erscheinungen, die anderen (Mehrheit) unter vom allgemeinen Typus etwas abweichenden. Gleichzeitig mit der Emulsion wurde den Kontrolltieren eine Mischung von Organsubstanz und Antitoxin injiziert. In allen Fällen übte das Antitoxin in größerem oder geringerem Maße eine neutralisierende Wirkung aus. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Antitoxin im Tierkörper eine genügende neutralisierende Wirkung nicht entfaltet hatte, während es tatsächlich im stande ist, wie die Versuche in vitro zeigen, bei genügender Massenwirkung eine neutralisierende Wirkung auch auf das an die Zellen gebundene Gift auszuüben.

Meine experimentelle Arbeit war hauptsächlich darauf gerichtet, die Frage zu entscheiden, ob auch bei Tieren, die an Tetanus starben, im Gehirn oder Rückenmark spezifische Giftsubstanz sich vorfindet oder nicht. Ich werde auf die diesbezügliche Literatur nicht näher eingehen, da das schon in unserer oben erwähnten Arbeit geschehen ist. Ich bemerke nur kurz, daß Shakespeare (29) Gift im menschlichen Gehirn und Rückenmark fand; Bruschetti (30) im Gehirn, Rückenmark, Niere und Harn; die anderen Organe wiesen kein Gift auf; Immerwahr (31) stellte das Vorkommen des Giftes im Gehirn, Leber, Milz, Niere und Herzen fest.

Asakawa (32) fand Gift in der Leber, Milz, den Hoden und Muskeln. Kein einziges Mal wurde Gift im Gehirn und Rückenmark angetroffen.

Gleiche Resultate erzielten Behring und Ransom (33). Dagegen fand Pasquin das Gift nur im Gehirn und Rückenmark, nicht in anderen Organen.

Die Anordnung dieser Versuche war sehr einfach. Den Tieren wurde eine konzentrierte Giftlösung injiziert. Wenn die Erscheinungen des Tetanus in deutlicher Form auftraten, wurde den Tieren der Harn abgelassen, bei den Kaninchen mitunter Blut aus der Art. carotis. In

allen Fällen wurde das Blut defibriniert. Wenn das Tier in den letzten Zügen lag, wurde zum zweiten Mal Blut entzogen. Die inneren Organe des gestorbenen Tieres wurden herausgenommen. Gewöhnlich waren sie mit Blut gefüllt. In besonderem Grade traf das bei der Leber und Milz zu. Die Harnblase war gewöhnlich überfüllt, Harn und Galle waren sehr wässerig und klar. Ich führte den Versuch in folgender Ordnung aus: Zuerst wurden Blut, Harn, Galle injiziert. Darauf wurde die Organsubstanz in üblicher Weise emulgiert. Die Emulsionen wurden in 2 Portionen verabfolgt. Die eine injizierte ich sofort, ohne sie besonders zu schwemmen. Die andere wurde sorgfältig mehrere Male geschwemmt und auf diese Weise von Blut gereinigt. Dann erst schritt ich zur zweiten Injektion (Tabelle 8). In der Partie von Mäusen, an denen die Einspritzung vorgenommen wurde, waren immer einige, denen ich die Emulsionen mit Antitoxin vermischt injizierte. Diese Mäuse dienten auf diese Weise zur Kontrolle.

Sämtliche Versuche stellte ich an Kaninchen und Meerschweinchen (11 Tiere) an, die für Tetanus sehr empfänglich sind. Versuche an „unempfindlichen“, d. h. wenig empfänglichen Tieren, wie z. B. das Huhn, habe ich nicht angestellt. Die Arbeiten von Vaillard (24) und Asakawa (32) über die Immunität der Hühner haben gezeigt, daß bei einer subkutanen oder intramuskulären Injektion des Tetanusgiftes letzteres im Blute sehr lange bleibt. Bei einer Sektion des Huhnes in der Periode, wo im Blut Gift enthalten ist, sind alle Organe im stande, bei Mäusen Tetanus hervorzurufen, doch nur nach Maßgabe ihres Blutgehaltes (?). Nur die Ovarien und Hoden besitzten die Fähigkeit, das Gift zu binden. Ferner ist bekannt, daß das Blut vom Huhn gegenüber dem Tetanusgift nicht antitoxisch wirkt. Die Unempfindlichkeit der Hühner darf nicht mit dem Fehlen der Ehrlich'schen Rezeptoren im Nervensystem in Zusammenhang gebracht werden, da die Hühner ohne weiteres an Tetanus erkranken, wenn man ihnen das Gift direkt ins Gehirn injiziert. Wenn die Hühner bei einer subkutanen Injektion unempfindlich zu sein scheinen, so rührt das davon her, weil das Gift von verschiedenen Zellen (Makro- und Mikroorganismen nach Metschnikoff, vielleicht aber auch von anderen Zellorganen früher an sich gerissen wird, ehe es das Nervengebilde erreichen konnte.

Bevor ich zur Darlegung der Resultate dieser Versuche schreite, greife ich mit der Erklärung vor, daß bei den Meerschweinchen gewöhnlich unmittelbar bis zum Tode im Blut Toxin vorhanden war. Dabei erkrankten Mäuse, denen dieses Blut injiziert wurde, an Tetanus in sehr typischer Form. Bei den Kaninchen schwindet das Gift im Blut sehr schnell. Blumenthal bemerkt, daß um dieselbe Zeit, wo beim Kaninchen die ausgesprochenen Symptome des Tetanus auftreten, das Blut desselben kein Gift mehr enthält. Unter allen von mir untersuchten Fällen (5) kenne ich keinen einzigen, wo bei Mäusen, denen ich Harn und Blut an Tetanus gestorbener Kaninchen injizierte, infolgedessen eine Erkrankung an Tetanus beobachtet wurde.

Die Tabelle No. 8 zeigt, daß dagegen alle Organe (die wir untersuchten) im stande sind, bei Mäusen eine Tetanuserkrankung hervorzurufen. Leider beobachteten wir in diesen Fällen nur selten ein typisches Tetanusbild. Die tetanischen Zuckungen werden oft von klonischen abgelöst, der Tetanus äußert sich sehr schwach, und es wäre sehr schwer zu sagen, warum die Mäuse zu Grunde gingen, wenn wir daneben nicht die Kontrollversuche mit Mischungen von Emulsion und Antitoxin an-

Tabelle
 Versuche angestellt mit geschwemmten Organen von
 Lebensdauer nach der

Nummer	Versuchstier	Quantität des injizierten Giftes	Quantität der den Mäusen eingespritzt. Organemuls.	Blut 0,5 ccm	Gehirn	Rückenmark	Leber
1	Meerschweinchen	0,0025	0,2	120	g	48*	96!
2	"	0,00625	0,3	g	18**	42*!	72
3	"	0,0075	0,5	54	g		34**
4	"	0,01	0,3	120	85!	g (2) K (1)	K!
5	"	0,01	0,3	132	108		g
6	Kaninchen	0,1	0,5	g	125**	g	60!
7	Meerschweinchen	0,0187	0,5	g	24*	60**	g (2) 72 (1)!

Zeichen -

* = Krämpfe klonisch.

** = Sind mit für Tetanus nicht typischen Symptomen gestorben.

K = Erkrankte, wurde jedoch wieder gesund.

gestellt hätten. Uebrigens braucht uns dieser Umstand nicht zu beirren. Schon 1897 bemerkte Blumenthal (15), daß das Extrakt von der Leber eines tetanischen in der Dose von 0,35 ccm, bei Mäusen strychninartigen Tetanus hervorrief, eine Beobachtung, die von Tauber (17) und Kraus (36) bestätigt wurde. Blumenthal, der diese Frage genauer untersuchte, gelangte zu dem Schlusse, daß das strychninartig wirkende Tetanusgift eine Verbindung zwischen Zellsubstanz und Gift sei. Auch bei seinen Versuchen an Kaninchen hat Blumenthal die Beobachtung gemacht, daß die Organsäfte des an Tetanus verstorbenen Kaninchens keinen typischen Tetanus hervorrufen.

Am meisten verdienen die Versuche Beachtung, in denen das Blut kein Gift enthielt (No. 2, 6, 7). Die Untersuchung No. 7 ist für uns insofern interessant, als hier Antitoxin im Stadium der höchsten Entwicklung der tetanischen Erscheinungen injiziert wurde (1,5 ccm = 30 AE.): Das Tier — ein Meerschweinchen — lebte noch 8 Stunden und starb dann. Das Blut war beim Tode des Tieres antitoxisch, obgleich es beim Meerschweinchen sonst unmittelbar bis zum Tode Gift enthält.

Es gelang uns nicht, aus unseren Versuchen einer besonderen Eigentümlichkeit in der Wirkung der einzelnen Organe auf die Spur zu kommen. Wir können behaupten, daß Gehirn, Rückenmark, Leber, Niere, Milz, Lunge und Muskel von an Tetanus gestorbenen Tieren (Kaninchen und Meerschweinchen) unabhängig von ihrem Blutgehalt bei Mäusen eine Tetanusvergiftung hervorzurufen im stande sind. Die Symptome der Tetanuserkrankung unterscheiden sich in diesem Fall in merklicher Weise vom typischen Tetanus. Die Galle und der Harn von tetanischen Tieren enthalten unter normalen Bedingungen kein Tetanusgift.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Dr. E. v. Leyden meine Dankbarkeit für die gütige Erlaubnis, in seiner Klinik zu arbeiten, in aufrichtiger Verehrung auszudrücken.

No. 8.

 Tieren, die an Tetanus zu Grunde gegangen sind.
 Injektion in Stunden.

Niere	Muskeln	Milz	Lunge	Bemerkungen
72				
35**!				
72	42**!?			
90	96!			
	58	11?		
36!	K(2)125(1)	g	K!	Die Gelenke angeschwollen. Exsudat sehr giftig. Mäuse gingen nach 12 Stunden zu Grunde.
g	g	40!		Zuerst wurde dem Meerschweinchen die Gifflösung eingespritzt und dann nach 26 Stunden Antitoxinlösung.

Erklärung.

! = Bei Kontrollversuchen mit Organemulsion und Antitoxinmischung blieben die Mäuse gesund.

!? = Bei Kontrollversuchen mit Organemulsion und Antitoxinmischung sind die Mäuse gestorben.

Herrn Privatdozenten Dr. Blumenthal, Vorsteher des wissenschaftlichen Laboratoriums der I. medizinischen Universitätsklinik spreche ich in tiefer Erkenntlichkeit für seinen wertvollen Beistand und sein freundliches Entgegenkommen meinen herzlichen Dank aus.

Literatur.

- 1) Blumenthal, F., Klinische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis des Tetanus. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXX. Heft 5 u. 6.)
- 2) Wassermann u. Takaki, Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 1.
- 3) Krokiewicz, Klin. therap. Wochenschr. 1903. No. 6.
- 4) Drosdowsky, Gasetta lekarska. 1900. No. 43.
- 5) Fermi, C. e Celli, F., Riforma medica. 1892. No. 189.
- 6) Asakawa, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. 1898.
- 7) Schütze, A., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXV. Heft 5 u. 6.
- 8) Besredka, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903. No. 2.
- 9) Dmitrewsky, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903. No. 2.
- 10) Morax, V. et Marie, A., Annal. d. l'Inst. Pasteur. 1902. p. 818 u. 1903. p. 335.
- 11) Meyer, Hans u. Ransom, Fr., Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XLIX. 1903. Heft 6.
- 12) Marie, A., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. IX. No. 7.
- 13) Roger, Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. III. 1891. p. 727.
- 14) Kondratjeff, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXVII. 1896. p. 202.
- 15) Blumenthal, F., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXII. Heft 3 u. 4.
- 16) Milchner, Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 17.
- 17) Tauber, Wien. klin. Wochenschr. 1898. No. 31.
- 18) Teissier et Frenkel, Arch. de Physiol. 1898. No. 1.
- 19) Mairet et Vires, Compt. rend. Soc. de Biol. 1897. N. 10. p. 437—439.
- 20) Foà u. Pellacani, vgl. Schütze. No. 7.
- 21) Marie, A., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. p. 91.
- 22) Metschnikoff, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XII. p. 71 et 263.
- 23) Tizzoni, G. e Cattani, G., Riforma medica. 1896.
- 24) Vaillard, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1891. p. 462.
- 25) Kempner u. Gehepilewsky, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXII. 1898. p. 213.
- 26) Roger et Josué, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1898. No. 11.
- 27) Nencki, M., Sieber, N. u. Sehounowa-Simanowskaja, Centralbl. f. Bakt. 1898. p. 840.
- 28) Ignatowsky, A. u. Rosenfeld, F., Ztschr. f. klin. Med. Bd. L. 1903. H. 5 u. 6.

- 29) Shakespeare, Centralbl. f. Bakt. 1887. No. 18.
 30) Bruschetti, Riforma medica. 1892. p. 172.
 31) Immerwahr, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 30.
 32) Asakawa, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. 1898.
 33) Behring u. Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 16.
 34) Pasquini, La Riforma medica. 1902. No. 22 u. 23.
 35) Blumenthal, F., Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 12.
 36) Kraus, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXVII. 1899.
 37) v. Leyden, E. u. Blumenthal, F., Der Tetanus. (Spez. Pathol. u. Therapie hrsg. v. Nothnagel.)
 38) v. Dungern, E., Die Antikörper. 1903.
 39) Metschnikoff, J., L'immunité etc. Paris (Manson & Cie.) 1901.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der grossen Haustiere.

Von **J. Bongert**,

städtischem Tierarzt und Leiter des bakteriologischen Laboratoriums auf dem städtischen Schlachthofe zu Berlin.

Mit 3 Tafeln.

(Schluß.)

Ich stellte nun einen Kontrollversuch an, indem ich in 3 ccm sterilen destillierten Wassers 2 Oesen frisch aufgefangenes Schafblut auflöste und in diese Auflösung 1 Oese der ersten Verdünnung einer 15-stündigen Milzbrandbouillonkultur impfte. Bereits nach 24 Stunden war eine leichte Trübung eingetreten; in den Ausstrichen fanden sich in großer Zahl kurzgliedrige Milzbrandbacillen, welche nach weiteren 12 Stunden bereits zum größten Teil Sporen gebildet hatten. Es ist somit bewiesen, daß die Milzbrandbacillen in einer äußerst stark verdünnten Auflösung von Blut in destilliertem Wasser sich vermehren und Sporen bilden.

Aus obigem Versuch geht hervor, daß durch vorübergehende Eintrocknung der Milzbrandbacillen die Sporenbildung derselben nicht beeinträchtigt wird. Im eingetrockneten Blute können sich die Milzbrandbacillen 1 Monat und noch länger lebensfähig erhalten und dann noch bei Zuführung von Wasser unter günstigen Temperaturverhältnissen Sporen bilden. Hiermit ist aber zugleich eine Vermehrung der Milzbrandkeime verbunden, da den Milzbrandbacillen in dem Blute, dem Medium, in welchem sie eingetrocknet sind, genügend Nährmaterial mit auf den Weg gegeben ist.

Diese Tatsache ist in epidemiologischer Hinsicht von einer gewissen Bedeutung. Sie zeigt, daß in den blutigen Abgängen von milzbrandigen Tieren im Erdboden, auch ohne daß in letzterem Nährsubstanzen vorhanden sind, eine Vermehrung der Milzbrandkeime bei genügender Feuchtigkeit stattfinden kann. Vor allen Dingen bilden aber die in den Erdboden eingesickerten und eingetrockneten bacillenhaltigen blutigen Abgänge auch dann noch für längere Zeit eine ständige Gefahr für eine Verbreitung und Vermehrung der Milzbrandkeime, wenn es beim Eindringen in den Erdboden nicht sofort wegen ungünstiger Verhältnisse zur Sporenbildung gekommen ist. Bisher glaubte man, daß die Milzbrand-

bacillen sowohl durch Fäulnis wie durch Austrocknung (R. Koch, Soyka) bald zu Grunde gehen, so daß die von diesen drohende Gefahr für eine Erzeugung der Dauerform unter diesen Verhältnissen bald verschwindet. Das ist aber, wie wir gesehen haben, nicht der Fall. In den oberflächlichen Erdschichten eingetrocknet, sind die Milzbrandbacillen vor Fäulnis und der desinfizierenden Einwirkung des Lichtes und der Sonnenstrahlen geschützt. Sie erhalten sich wochenlang lebens- und entwickelungsfähig. Somit ist die Möglichkeit gegeben, daß noch nach Verlauf von Wochen bei Eintritt günstiger Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse die im eingetrockneten Zustande widerstandsfähigen Milzbrandbacillen sich vermehren, Sporen bilden und zum Stationärwerden des Milzbrandes Veranlassung geben.

Auf einen Punkt möchte ich noch näher eingehen. Während die Milzbrandbacillen in einem faulenden Medium bald zu Grunde gehen, widerstehen die Milzbrandsporen der Fäulnis (R. Koch). Ich habe mehrere Stämme von Milzbrandsporen vor etwa 2 Jahren mit faulem Rinderblut vermischt und in verkorkten Flaschen aufbewahrt. Im Anfang gingen in den Plattenkulturen die verschiedensten Bakterienkolonien auf, welche die Milzbrandkolonien überwucherten. Allmählich nahm die Zahl und Art der Fäulnisbakterien ab, so daß der Prozentsatz der Milzbrandkolonien zu demjenigen der Fäulnisbakterien erheblich zunahm. Nach Verlauf von etwa 3 Monaten waren nur noch einzelne sporenbildende anaerobe Stäbchen neben Milzbrandsporen vorhanden, so daß in den Platten (aërob) viele Milzbrandkolonien in Reinkultur aufgingen. Nach Verlauf von ca. 2 Jahren ist der bakteriologische Befund der faulen Blutproben derselbe geblieben. In den Plattenkulturen gehen Milzbrandkolonien mit typischem Wachstum und normaler Virulenz in Reinkultur auf und bei anaerober Züchtung vereinzelt Kolonien von sporenbildenden schlanken Stäbchen. Es folgt hieraus, daß die Milzbrandsporen lebhaften Fäulnisprozessen widerstehen, während die verschiedenen Fäulnisbakterien, auch die sporenbildenden, im Konkurrenzkampf sich gegenseitig ablösen und unterdrücken. Während die eine Art hochkommt, geht die andere zu Grunde, erstere kann aber nur bis zu einem bestimmten Reaktionsgrade gedeihen, dann macht sie wieder einer anderen Bakterienart Platz, bis schließlich fast alle zu Grunde gegangen sind, die Flüssigkeit ausgefault ist und nur noch wenige widerstandsfähige Sporen übrig geblieben sind. Dieser Symbiose mit Fäulnisbakterien widerstehen die Milzbrandsporen, so daß schließlich in fauligem Substrat fast nur noch letztere sich vorfinden.

Das Nichtauskeimen der Milzbrandsporen in faulem Substrat, ihr großes Resistenzvermögen und das geringe Nährstoffbedürfnis der Milzbrandbacillen zum Wachstum gestatten einen Einblick in das Dunkel der miasmatischen Entwicklungsweise des Milzbrandes.

Tabellarische Uebersicht

der Untersuchungen über den Nachweis der Milzbrandbacillen im faulenden Tierkadaver.

[Milzbrand = Mzb., Milzbrandbacillen = Mzbc.]

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum d. Todes, Datum d. Sektion, Witterung, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Impfung	Kultur
1	17. Mai 01 abends	Kuh, † 17. Mai früh, Sekt. 17. Mai nachmitt., Untersuchung 17. Mai abends, Milz und Herz überwiesen. Witterung kühl, feucht. 12,8°.	Gut differenzierte Mzbc. neben Oedembacillen u. Haufen von plumpen, coliartigen Stäbchen.	17. Mai 01 abends geimpft M. o. A. mit Milz M. o. O. r. mit Herzblut. Beide Mäuse † n. 24 Std. Mzb.-Septikämie	Platten: Viele Mzb.-Kolonieen neben vereinzelt anderen
	19. Mai 01	Witterung feucht. 11,2°.	Auswachsen der Mzbc. zu langen Fäden, leere Kapseln in größerer Zahl treten auf; beginnender Zerfall der Mzbc. Gegliederte Fäulnisstäbchen, welche etwas dicker wie Mzbc. sind und sich kräftiger färben, in größerer Menge vorhanden. Material v. Flasche u. Kartoffel keine Mzbc. nachweisbar.	M. o. A. m. Milz † 20. Mai. M. o. O. r. m. Blut † 21. Mai. Milz = Oedembacillen in langen Schleifen u. Bact. coli ähnliche Stäbchen. Impfstelle = Bakteriengemisch. Stäbchen von der Größe der Mzbc. zu 1 od. 2 zusammenliegend mit feiner Kapsel. Diagnose durch Ausstrich fraglich. M. o. A. = Impfstelle durch Plattenkultur Mzbc. nachgewiesen. Wenige Kolonieen aufgegangen, desgl. Herzblut. M. o. O. r., Milz, Herzblut. Impfstelle Bakteriengemisch. Mzb. durch Kultur nicht nachgewiesen.	Platten; Verhältnismäßig wenige Mzb.-Kolonieen neben vielen anderen Kolonieen von Fäulnisbakterien
	20. Mai 01	do.	Schneller Zerfall der Mzbc. Vermehrung der Fäulnisstäbchen, die in 2- od. 3-gliedrigen Verbänden oder zu langen, geschlungenen Fäden vereinigt sind, deren Einzelglieder quer gestützte Enden und die Dicke der Mzbc. besitzen, jedoch etwas länger sind, wie letztere.	M. o. A. m. Material aus Doppelschale, † 21. Mai. Milz = Oedembac. u. Bact. coli ähnliche Stäbchen. Impfstelle = Bakteriengemisch. Kulturen negat. M. o. O. r. Material in Flasche, † 21. Mai. Milz plumpe Stäbchen in geringer Zahl. Impfstelle = Reichhaltiges Bakteriengemisch. Herzblutkultur neg., desgl. Platten der Impfstelle. M. o. O. l. Kartoffelkultur, † 22. Mai. Herzblut = Bact. coli ähnliche Stäbchen in wenigen Kolon. Impfstelle Bakteriengemisch, auch durch Platten Mzb. nicht isoliert.	Plattenkultur aus Material: 1) Doppelschale = mehrere Mzb.-Kolonieen neben vielen anderen 2) Flasche = wenig Mzb.-Kolonieen 3) Kartoffel = wenige Mzb.-Kolonieen unter unzähligen anderen 4) offen stehend = do.

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum d. Todes, Datum der Sektion, Witterung, Temperatur, Ver- suchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Impfung	Kultur
1	21. Mai 01	Wetter klar, heiter. 10,0°.	In dem starken Bakteriengemisch Mzbc. nicht mehr mit Sicherheit erkennbar. Im Material der Doppelschale nur noch ganz vereinzelte, leere undeutliche Kapseln sichtbar. Außerdem Fäulnisstäbchen mit endständigen Sporen und vereinzelte Stäbchen, etwas dicker wie Mzbc. mit deutlich konturierter Kapsel.	M. o. A. m. Mat. Doppelschale, † 23. Mai. M. o. O. r. m. Mat. Flasche, † 23. Mai. M. o. O. l. mit Kartoffel, † 22. Mai. M. o. bd. O. mit Material offenstehend, kutan am Ohr, † 25. Mai. Sämtliche 4 Mäuse starben nicht an Mzb. Herzblut, Milz in Ausstrichen und Kultur = ein schweineseuchenähnliches Stäbchen in großer Zahl. Impfstelle = Bakteriengemisch, durch Plattenkultur kein Milzbrand zu isolieren.	Plattenkultur aus: 1) Doppelschale = etwa 10 Mzb.-Kolonien in Platte 2 2) Flasche = wenige Mzb.-Kolonien 3) Kartoffel = desgl. 4) offenstehend = desgl.
2	22. Mai 01	Witterung kühl, trocken. 10,0°.	Starker Bakteriengehalt in sämtlichen 4 verschiedenen aufbewahrten Proben, namentlich aber in dem Material der Flasche. Intakte Mzbc. nicht mehr vorhanden. Kapselüberreste nur noch undeutlich hervortretend. Desgl. die fast vollkommen aufgelösten Bacillenleiber. In dem offen aufbewahrten Material Stäbchen auftretend, welche in Form und Größe mit Mzbc. zu verwechseln sind, daneben Spirillen und Streptokokken.	M. o. A. m. Mat. Doppelschale, † 23. Mai Kultur aus Milz und Herzblut steril. Impfstelle schweineseuchenähnliche Stäbchen. Kein Mzb. M. o. O. r., Flasche, † 24. Mai; desgl. M. o. O. l., Kartoffel, † 27. Mai. Kulturen negativ. Impfstelle Bakteriengemisch. M. o. bd. O. Mat. offenstehend, † 23. Mai. Herzblut, Milz steril. Kein Mzb. nachgewiesen.	Platten aus Mat.: 1) Doppelschale Pl. I 2 Kolonien. 2) Flasche negativ. 3) Kartoffel desgl. 4) offen stehend desgl. Mat. v. 1—4 in reichlicher Menge in verflüssigten Agar gebracht und 1 Std. auf 70° erhitzt, zeigt sich, zur Platte ausgegossen, steril. Demnach keine Sporenbildung eingetreten.
3	23. Mai 01	desgl. 10,4°.	Ausstriche = keine Spur von Mzbc. nachweisbar.	Impfung negativ. Mäuse † 24—48 Std. Resultat wie am 22. Mai.	Nachweis d. Mzb. durch Platten negativ.
2	27. Mai 01	Kuh, Gut B, † 25. Mai. Sektion 26. Mai. Milz überwiesen am 27. Mai morgens. Witterung trübe, feucht. 15°. Mittags über 25° C.	In Ausstrichpräparaten nach Johne, Klett und Gram gefärbt, viele Mzbc. mit undeutlich hervortretender Kapsel, bereits in Zerfall begriffen, daneben Kokken und plumpe Fäulnisstäbchen. Mäßiger Gehalt an Mzbc. Wenige Fäulnisbakterien.	2 Mäuse geimpft, † 24 Std. Impfstelle und Milz nicht mit Sicherheit Mzbc. als solche zu erkennen. Maus No. 1 Herzblut steril. Exsudat der Impfstelle durch Plattenkultur kein Mzb. nachgewiesen. Maus 2 Herzblut in 1 Röhrechen Mzbc. in 2 Kolonien aufgegangen, 3 Röhrechen Herzblut steril. Plattenkultur Impfstelle negativ.	Agarplatten Mzb.-Kolonien in größerer Zahl unter verschiedenartigen anderen Kolonien.

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum d. Todes, Datum der Sektion, Witterung, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Impfung	Kultur
2	28. Mai 01	Witterung trübe, feucht. 15,5° morg. 26,5° mittags	<p>Doppelschale = Starker Bakteriengehalt, Mzbc. als solche nicht mehr erkennbar. Fäulnisstäbchen mit deutlicher Kapsel, mit Mzbc. zu verwechseln, treten auf (Phot. 1).</p> <p>Flasche = Fäulnisstäbchen mit endständigen Sporen. Mzbc. auch nicht die Spur davon nachweisbar.</p> <p>Kartoffel = Starker Bakteriengehalt; keine Mzbc.-Stäbchen oder Fäden nachweisbar.</p> <p>Milz offenstehend = Wenige Fäulnisstäbchen, Mzbc. als schwach gefärbte feine Striche, mit undeutlicher Kapsel versehen, eben erkennbar.</p>	<p>M. o. A., Mat. Doppelschale, † 4. Juni. Milz u. Herzblutkultur steril.</p> <p>Impfstelle Bakteriengemisch. Durch Platten v. Exsudat der Impfstelle Mzbc. nicht nachgewiesen.</p> <p>M. o. O. r., Mat. Flasche, † 31. Mai, Mzb.-Septikämie.</p> <p>M. o. O. l., Kartoffel, † 2. Juni. Milz u. Herzblut Staphyl. albus u. plumpe Stäbchen in kleinen Kolonien wachsend. Keine Mzbc.</p> <p>M. o. bd. O., Milz offen, † 6. Juni, aufgeessen.</p> <p>M. o. Schw., kutan am Ohr geimpft, † 10. Juni. Herzblut, Milz steril.</p>	<p>Doppelschale: Pl. I 13 Mzb.-Kolon. Pl. II negativ.</p> <p>Flasche: Pl. I wenige Mzb.-Kolon. Pl. II desgl.</p> <p>Kartoffel: Pl. I 1 Mzb.-Kolon. Pl. II desgl. offenstehend: Pl. I negativ Pl. II desgl.</p>
	29. Mai 01	Witterung ziemlich warm. 15,2°.	Fäulnisstäbchen in großer Zahl. Mzbc. nicht mehr nachweisbar, auch nicht die Spur einer Andeutung von leeren Kapseln. Befund in sämtlichen 4 Proben ziemlich übereinstimmend. Schweineseuchenähnliche Stäbchen in großer Zahl.	<p>Doppelschale, M. o. A., † 30. Mai.</p> <p>Impfstelle schweineseuchenähnliche Stäbchen, Streptokokken etc. Milz, Herzblut, erstere in Reinkultur.</p> <p>Flasche: M. o. O. r., † 30. Mai, desgl. Platten von Impfstelle negativ bezügl. Mzb.</p> <p>Kartoffel, M. o. O. l., † 30. Mai, desgl. negativ.</p> <p>Milz offen: M. o. bd. O., † 4. Juni, aufgeessen.</p> <p>M. o. Schw. kutan am Ohr, † 7. Juni. Milz keine Mzbc.</p> <p>Kultur plumpe Fäulnisstäbchen.</p>	<p>Doppelschale: Pl. 1 negativ Pl. 2 desgl.</p> <p>Flasche: Pl. 1 negativ Pl. 2 desgl.</p> <p>Kartoffel: Pl. 1 mehrere Mzbc.-Kolonien unter unzähligen anderen. Pl. 2 desgl.</p> <p>Milz offenstehend: Pl. 1 negativ Pl. 2 desgl.</p> <p>Kartoffel = Prüfung auf Mzb.-Sporen, durch Erhitzen 1 Stunde lang auf 70° negativ. Platte steril.</p>
	30. Mai 01	Witterung warm. 17,4°.	Ausstriche von den 4 verschiedenen aufbewahrten Milzproben, nach Johne-Klett-Olt gefärbt, negativ bez. Nachweises von Mzbc.	Impfung von 5 Mäusen wie am 29. Mai ergibt dasselbe negative Resultat. Tod der Mäuse innerhalb 1—3 Tagen an Septikämie, Kultur bipolare Stäbchen, schweineseuchenähnlich.	Platten von sämtlichen 4 Proben negativ. Viele verschiedene Kolonien sekundärer Fäulnisbakterien aufgegangen.

Lfd. No. Datum	Tiergattung, Datum d. Todes, Datum d. Sektion, Witterung, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Impfung	Kultur
3 31. Mai 01	<p>Kuh, † 29. V., seziiert am 30. V. An demselben Tage ein Milzstück in einer Salbenkrucke überwiesen, am 31. V. untersucht.</p> <p>Es wird ein Röhrchen m. steriler Milch geimpft u. ein durch die Bunsenflamme gezogener Objektträger nach dem Abkühlen mit Milzpulpa bedickt u. zum Eintrocknen in einer Petrischen Schale genügend geschützt an einem dunkeln Ort aufgestellt. Außerdem wird eine gekochte Kartoffel nach der Olt'schen Angabe beschickt.</p> <p>Witterung warm, schwül. Temp. 20,8°, mittags bis 30° steigend.</p>	<p>Viele Mzbc. im Zerfall begriffen. Bacillenleib wie zernagt aussehend. Kapsel darstellbar. Fäulnisstäbchen von der Größe und Gestalt der Mzbc., satt gefärbt, vielfach in Haufen zusammenliegend. Intakte Mzbc. nur in geringer Zahl vorhanden, dagegen viele leere Kapseln. Milzzellen zu einer strukturlosen Masse zerflossen, welche sich diffus färbt. Mzbc. gegenüber den anderen Stäbchen schwach gefärbt. Eini- germaßen deutlich gelingt die färberische Darstellung der Kapsel an den in Zerfall begriffenen Bacillenleibern nur nach der Olt'schen Methode und mit der Klett'schen Doppelfärbung.</p>		<p>In den angelegten Platten gehen Mzb.-Kolonien, stark verunreinigt, auf.</p>
1. Juni 01	<p>Gewitterneigung, feucht. Temp. 21,8°, mittags über 30°.</p>	<p>Nur noch wenige Mzbc. mit eben hervortretender Kapsel und schwach gefärbtem, zernagt aussehendem Bacillenleib nachweisbar. Bedeutende Abnahme der Zahl der Mzbc. Vermehrung der Fäulnisbacillen.</p>	<p>M. o. A. Ausgangsmaterial Milz offenstehend, † 2. Juni abends, Mzb.-Septik. M. o. O. r, desgl., † 6. Juni. Milz und Herzblut steril. Impfstelle Nekrose. Streptokokken und coliforme Stäbchen. M. o. O. l., Milchröhrchen überlebend. M. o. bd. O., Mat. Objektträger, † 5. Juni, aufgef. Zur Untersuchung nicht mehr geeignet.</p>	<p>Ausgangsmaterial Pl. I 4 Mzb.-Kolonien unter unzähl. anderen Pl. II negativ. Milchröhrchen 31. Juni negat.; bipolar sich färbende Stäbchen und plumpe Fäulnisstäbchen. Objektträger v. 31. Juni etwa 10 isolierte Mzb.-Kol. makroskopisch erkennbar.</p>

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
4	18. Juni 1901	Witterung kühl, regnerisch T. 11,4°	Mzbc. ohne Kapsel. Zahl im Abnehmen begriffen. Viele Fäulnisstäbchen in langen Verbänden mit scharf abgestutzten kurzen Einzelgliedern in Größe der Mzbc. Nur die stärkere Färbung gewährt einen Anhaltspunkt zur Unterscheidung von den weniger intensiv gefärbten, vereinzelt liegenden u. in Zerfall begriffenen Mzbc.	Mzb.-Kolonieen in größerer Zahl aufgehend neben vielen anderen
	19. Juni	Witterung heiter, warm T. 14,6°, gegen Mittag steigend. Von diesem Tage an werden von dem verschieden aufbewahrten Mzb.-Material vergleichsweise Plattenkulturen angelegt	Zahl der Mzbc. rapide abnehmend. Dieselben wenig charakteristisch. Auflösung von der Peripherie aus, Abnahme der Dicke des Bacillenleibes u. der Färbbarkeit	In den Platten vom Ausgangsmaterial gehen noch viele Mzb.-Kolonieen auf, welche unter der großen Zahl der Kolonieen von Fäulnisbakterien leicht zu erkennen sind 1) Material auf Objektträger eingetrocknet, angel. 17. Juni desgl. v. 18. Juni 2) Kartoffel (Olt) angel. 17. Juni Kartoffelröhrchen angel. 17. Juni Kartoffel (Olt) angel. 18. Juni 3) Geronnenes Eiweiß stark eingetrocknet auf Objekttr., 17. Juni desgl. v. 18. Juni 4) Geronnenes Eiweiß feucht erhalten, Zimmertemperatur, angel. 17. Juni desgl. v. 18. Juni desgl. ang. 17. Juni feucht erhalten, Brutschrank
	20. Juni	Witterung heiter, wolkenlos T. 11,7°	Mzbc. kapsellos, meistens schwach gefärbt, von den in großer Zahl vorhandenen Fäulnisstäbchen der Gestalt nach schwer zu unterscheiden	In den Platten vom Ausgangsmaterial Mzb.-Kolonieen in mäßiger Zahl aufgegangen Kartoffel (Olt) 17. Juni beschickt Kartoffel (Olt) 18. Juni beschickt

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
4	20. Juni 1901		In den Ausstrichpräparaten der Eiweiß-Objektträgerkulturen (feucht erhalten) unzählige sekundäre Bakterien der verschiedensten Art, jedoch keine Mzbc. nachzuweisen	Objektträger m. feucht erhaltenem geronnenen Eiweiß am 18. Juni beschickt, b. Brutschranktemperatur gehalten } Platten keine Mzbc. Kolonien aufgegangen, Mzbc. überwuchert desgl. am 19. Juni angelegt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt } Plattenkultur negativ. Mzb. überwuchert von peptonisierenden Bakt. Objektträger, Eiweiß eingetrocknet, am 17. Juni beschickt } 5 isolierte Mzb.-Kolonien, sonst nichts desgl. 18. Juni } mehr. Mzb.-Kolonien, sonst nichts desgl. 19. Juni } Mzb.-Kolonien in größerer Zahl
	21. Juni	Witterung heiter, warm T. 17,3°	Ausstrichpräparate negativ Keine Spur von Stäbchen mehr zu erkennen, welche man als Ueberreste untergegangener Mzbc. ansprechen könnte. Viele Fäulnisstäbchen in langen Verbänden von der Größe der Mzbc.	Ausgangsmaterial — durch Platten Mzb. noch nachgewiesen 1) Objektträger mit eingetrocknetem Mzb.-Material beschickt am 17. Juni } viele Mzb.-Kolonien in Reinkultur am 18. Juni } desgl. am 19. Juni } desgl. am 20. Juni } 3 Mzb.-Kolonien nachgewiesen, starke Verunreinigung. 2) Objektträger — geronnenes Eiweiß feucht — Brutschrank 18. Juni angelegt } kein Mzb. nachweisbar, überwuchert 19. Juni angelegt } 3) Objektträger, Eiweiß eingetrocknet 17. Juni } negativ 18. Juni } mehr. Mzb.-Kolonien 19. Juni } keine Mzb.-Kolonie, viele andere 20. Juni } 2 Mzb.-Kolonien
	22. Juni	Witterung trocken, warm T. 17,1°	Ausstrichpräparate negativ	Im Ausgangsmaterial Mzb. durch Plattenkultur nicht mehr nachweisbar 1) Kartoffelröhrchen 17. Juni angelegt } Platten negativ, überwuchert 18. Juni angelegt } desgl. 19. Juni angelegt } desgl. 2) Geronnenes Eiweiß eingetrocknet auf Objektträger bei Zimmertemperatur angelegt 17. Juni } negativ, fast steril angelegt 18. Juni } 5 Mzb.-Kolonien angelegt 19. Juni } viele Mzb.-Kolonien angelegt 20. Juni } 3 Mzb.-Kolonien

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
5	2. Juli 1901	Kuh, † 1. Juli. Sektion 6 Std. nach dem Tode. 2. Juli abends 7 $\frac{1}{2}$ Uhr die ganze Milz erhalten. 4-fach vergrößert. Pulpa zerfließlich, über die Schnittfläche hervorquellend, schwarzrot. Gewitterneigung T. 18,3 ^o	Geringer Mzbc.-Gehalt. Kapsel um die Mzbc. nach Johne und Klett nicht darstellbar, nach der Olt'schen Methode undeutlich hervortretend. Zerfall des Bacillenleibes vom Rande aus. Wenige leere Kapseln vorhanden. Sekundäre Fäulnisbakterien in geringer Zahl nachweisbar. In der Herzblutprobe Mzbc. mit Kapseln nachweisbar	Typische Mzbc.-Kolonien neben vereinzelt anderen Kolonien
	3. Juli	Witterung klar T. 16,2 ^o mittags über 20 ^o Mit steril entnommener Milzpulpa werden beschickt: 1) Objektträger in dicker Schicht 2) Kartoffelröhrchen 3) Gekochte Kartoffel (Olt) 4) Röhrchen mit sterilisierter Mohrrübe 5) Objektträger mit sterilem geronnenen Eiweiß Vom 5. Juli an werden mit diesen 5 Proben Plattenkulturen angelegt	Zahl der Mzbc. abgenommen. In großer Menge Stäbchen in Größe u. Form den Mzbc. ähnlich, jedoch deutlicher gefärbt wie die in Zerfall begriffenen Mzbc.; außerdem große Diplokokken	Viele Mzbc.-Kolonien, stark verunreinigt
	4. Juli	Witterung trübe, regnerisch T. 18,2 ^o In derselben Weise Objektträger, Eiweißplatten, Kartoffelnährboden und sterile Mohrrüben mit Mzbc.-Material beschickt	Die in Zerfall begriffenen Mzbc. sehr schwach gefärbt u. wegen der sehr geringen Anzahl unter den unzähligen anderen Stäbchen nur noch schwer zu erkennen. Zerfall der Zellkerne zu einem diffus sich färbenden Detritus, welcher die Durchmusterung der Präparate sehr erschwert	Vereinzelte Mzbc.-Kolonien, stark überwuchert

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanzordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
5	5. Juli 1901 Objektträger in derselben Weise wie unter 3. Juli beschickt Witterung trübe T. 16°	Mzbc. oder deren Andeutungen nicht mehr erkennbar. Zahl der Fäulnisbakterien in starker Zunahme begriffen. Als letzte Spur von Mzbc. sind feine, schwach und unterbrochen gefärbte, eben erkennbare Striche anzusehen, welche nach der Klettschen Doppelfärbung oder mit Loefflers Methylblau darzustellen sind	In der in einer Glasschale aufbewahrten Milz durch Plattenkultur keine Milzbrandkeime mehr nachweisbar Eingetrocknetes Mat. vom Objektträger, am 3. Juli angelegt Geronnenes Eiweiß (Objektträger) 3. Juli geimpft m. Mzb.-Material Gekochte Kartoffel (Olt) beschickt 3. Juli Kartoffelröhrchen 3. Juli Röhrchen mit Mohrrübe 3. Juli	positiv, viele Mzb.-Kolonieen desgl., viele Mzb.-Kolonieen positiv, viele Mzb.-Kolonieen desgl. desgl.
6	6. Juli Wolkenlos T. 19,4°	Nicht eine Spur, welche auf das frühere Vorhandensein von Mzbc. hätte schließen lassen, mehr vorhanden	Aus der Milzbrandmilz direkt keine Milzbrandkeime durch Plattenkultur mehr nachweisbar. Sporenbildung der Milzbrandbacillen nicht eingetreten Eingetrocknetes Mat. auf Objektträger beschickt am 3. Juli desgl. v. 4. Juli desgl. v. 5. Juli Objektträger mit geronnenem Eiweiß beschickt 3. Juli Kartoffel (Olt) 3. Juli Kartoffelröhrchen 3. Juli Sterile Mohrrübe 3. Juli Kartoffel (Olt) 4. Juli Kartoffelröhrchen 4. Juli	positiv, mehrere isolierte Mzb.-Kolonieen positiv, vereinzelte Mzb.-Kolonieen negativ positiv, viele Mzb.-Kolonieen viele Mzb.-Kolonieen unter vielen anderen verschiedenartigen desgl. negativ positiv, viele Mzb.-Kolonieen desgl.
8	8. Juli Regnerisch T. 15,8°	negativ	Eingetrocknetes Mat. auf Objektträger vom 2. Juli desgl. 3. Juli desgl. 4. Juli desgl. 5. Juli desgl. 6. Juli	viele isolierte Mzb.-Kolonieen mehr. Mzb.-Kolonieen nur 4 Mzb.-Kolonieen neben vielen anderen negativ negativ

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur		
5	8. Juli 1901	Regnerisch, Temp. 15,8°	Negativ	Objekttr. mit geronnenem Eiweiß am 3. Juli besät, offen aufbewahrt, stark eingetrocknet } viele kleine Mzb.-Kolonieen, wenige andere Kolonieen desgl. v. 3. Juli, vor rascher Eintrocknung geschützt, in der Rocktasche aufbew. im Fließpapierumschlag } wenige Kolonieen stark überwuchert desgl. Eiweiß v. 4. Juli, stark eingetrocknet } negativ, viele andere Kolonieen negativ desgl. v. 5. Juli } Mohrrübenkultur v. 3. Juli } desgl. v. 4. Juli } Kartoffelkultur-Reagier- röhrchen v. 3. Juli } in Platte I viele Mzb.-Kolon. unter unzähligen anderen leicht erkennbar Gekochte Kartoffel (Olt) beschickt v. 3. Juli } verschiedene kleine Mzb.-Kol. unter den vielen anderen in Pl. II schon bei makroskop. Betracht. erkennbar (Phot. 8) Kartoffelkultur-Reagenzglas v. 4. Juli } in Platten I u. II viele kleine Mzb.-Kolon. trotz starker Ueberwuchrg. leicht erkennb. Platte III keine Mzb.-Kolon. Kartoffel (Olt) v. 4. Juli }		
	10. Juli			Wolkenlos, Temp. 18°		Eintrockn. Mat. auf Objektträger v. 4. Juli } negativ Geronnenes Eiweiß auf Objektträger stark eingetrocknet v. 4. Juli } Mohrrübenkultur v. 3. Juli } desgl. v. 4. Juli } desgl. v. 6. Juli } Kartoffelröhrchen v. 3. Juli } viele Mzb.-Kolon. mäßig starke Ueberwucherung Kartoffel (Olt) v. 4. Juli } viele Mzb.-Kol. stark überwuchert Kartoffelröhrchen v. 5. Juli } negativ Kartoffel (Olt) v. 5. Juli } Kartoffelröhrchen v. 6. Juli } Kartoffel (Olt) v. 6. Juli }
	11. Juli					Reagenzglaskulturen von Kartoffeln und Mohrrüben und die Bakterienmasse auf den nach Olts Methode beschickten gekochten Kartoffeln in Bouillon aufgeschwemmt, 1 Stunde auf 70—80°

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
5	15. Juli 1901	erhitzt u. zu Platten ausgesät, um zu sehen, ob Sporenbildung stattgefunden hat		<p>Kartoffelröhrch. beschickt v. 3. Juli } viele Mzb.-Kolon. in Reink. aufgegangen desgl. v. 4. Juli } mehrere Mzb.-Kol. isoliert aufgegangen desgl. v. 5. Juli } negativ, Platt. steril desgl. v. 6. Juli } Kartoffelk. (Olt) v. 3. Juli } viele Mzb.-Kolon. vereinz. Mzb.-Kolon. desgl. v. 4. Juli } negativ desgl. v. 5. Juli } positiv, mehrere Mzb.-Kolonieen Eiweißobjektträger v. 3. Juli stark eingetrocknet } desgl. v. 3. Juli, in der Rocktasche verpackt 2 Tage lang transportiert } negativ Eintrocknetes Mzb.-Mat. auf Objektträger v. 2. Juli } " desgl. v. 3. Juli } " desgl. v. 4. Juli } " Kartoffelröhrchen v. 4. Juli } pos., viele Mzb.-Kol. Kartoffel (Olt) v. 3. Juli } desgl. Mohrrübenkultur v. 3. Juli } negativ desgl. v. 4. Juli } "</p>
	16. Juli	Desgl., Prüfung auf Sporenbildung		
6	18. Juli	Kuh † 16. Juli abds. Sektion 17. nachm. Am 18. morgens etwas Milzpulpa (dickflüssig) in einer kleinen Flasche mit Signatur „Karbolsäure“ zur Feststellung d. Diagnose überwiesen erhalten. Vom 16.—18. sehr warmes Wetter, Temp. 17,8—20,4°, Mittagstemp. üb. 30°	In den nach Klett und Olt gefärbten Ausstrichpräparaten sind Mzbc. mit schöner, deutlicher Kapsel sichtbar, in dem nach der Johneschen Färbemethode hergestellten Präparate tritt letztere weniger deutlich hervor. Außerdem finden sich verschiedene andere Bakterien, darunter auch Stäbchen, welche in Form und Größe mit kapsellosen Mzbc. zu verwechseln sind	Viele Mzb.-Kolonieen neben verschiedenartigen anderen
	19. Juli	Witterung warm, Tagestemp. über 20°	Schöngefärbte Mzbc. mit deutlich. Kapsel, außerdem plumpe Stäbchen mit abgestutzten Enden, ohne Kapsel, u. Kokken. Mzbc. in zieml. Zahl vorhanden, Zelleib in Zerfall begriffen	In den angelegten Platten nur 2 Mzb.-Kolonieen aufgegangen
	20. Juli	Desgl., hoher Feuchtigkeitsgehalt d. Luft	Zahl der vakuolären Zerfall zeigenden Mzbc. u. der leeren Kapseln zunehmend, daneben finden sich aber noch in größerer Menge intakte, schön gefärbte Mzbc. Auffallend ist die geringe Zahl der Fäulnisbakterien	In den Platten gehen keine Mzb.-Kolonieen auf, dagegen in mäßiger Zahl verschiedenartige Kolonien von Fäulnisbakterien

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
6	21. Juli 1901	Desgl., hoher Feuchtigkeitsgehalt d. Luft	Gut differenzierte Mzbc. nicht mehr vorhanden. Meistens sieht man undeutlich hervortretende Kapseln ohne Inhalt. Daneben milzbrand-ähnliche Stäbchen m. Kapseln, scharter Segmentierung und satter Färbung. Starker Bakteriengehalt.	Ausgangsmaterial negativ bzgl. Mzbc. Kultur auf Mohrrübe angel. v. 18. Juli desgl. auf Kartoffel desgl. auf Bouillon auf Objektr. aufbewahrt im Eisschrank v. 18. Juli Kultur in steriler Milch angel. v. 19. Juli desgl. in Bouillon v. 19. Juli desgl. auf Kartoff. v. 19. Juli Gekochte Kartoffel (Olt) v. 19. Juli Eingetrockn. Mat. auf Objekträger aufbewahrt bei Zimmertemper. v. 19. Juli desgl. aufbewahrt im Eisschrank v. 19. Juli Kult. in Bouillon v. 20. Juli desgl. auf Kartoff. v. 20. Juli desgl. auf Mohrr. v. 20. Juli Eingetrockn. Material vom Objekträger v. 20. Juli negativ " " " " viele isolierte Mzb.-Kolonieen 1 Mzb.-Kolonie negativ " " " " " "
	22. Juli 30. Juli	Anhaltend warmes Wetter, Tagestemp. über 20°	Am 22. Juli in den nach Johne, Klett, Olt gefärbten Ausstrichen keine Mzbc. Rapide Vermehrung der Fäulniskeime	Plattenkulturen von sämtlichen Mzb.-Proben bzgl. des Nachweises von Mzb. negativ desgl. auch das eingetrocknete Material auf dem Objekträger, welches am 18. Juli dick aufgetragen und im Eisschrank aufbewahrt wurde und in welchem am 21. Juli noch Mzbc. in größerer Zahl nachgewiesen wurden
7	9. Okt.	Kuh, Rittergut B., Mzbc. mit schön am 7. Okt. an Mzb. hervortretender Kapsel und sekundäre Sektion, 8. Okt. abds. Fäulnisbakterien in ganze starke geschwollene Milz, in einem Blechgefäß überwiesen erhalten. 9. Okt. Beginn der Versuche. Witterng. regnerisch, Morgentemp. 7,8—8,9°, mittags über 12°	Mzbc. mit schön hervortretender Kapsel und sekundäre Sektion, 8. Okt. abds. Fäulnisbakterien in ganze starke geschwollene Milz, in einem Blechgefäß überwiesen erhalten.	Mzb.-Kolonieen in großer Zahl aufgegangen
	10. u. 11. Okt.	Am 9., 10. u. 11. Okt. Beginnender Zerfall Je 1 Flasche mit 1-der Mzbc. und Ab-Witterng. promill. Sublimat regner., z. und 3-proz. Karbol- säure ausgespült und alsdann mit Milzsaft gefüllt und je 1 Flasche mit Milzsaft bis zu 1/8 angefüllt und mit 2-proz. Kochsalzlösung und Aqua dest. über-	Beginnender Zerfall der Mzbc. und Abnahme der Färbbarkeit derselben. Zut. heiter, saure ausgespült und alsdann mit Milzbakterien, darunter plumpe Stäbchen mit endständiger Sporenbildg. Fäulnisstäbchen im Gegensatz zu den Mzbc. gut gefärbt	Mzbc.-Kolonien mit vielen anderen Kolonieen verschiedenartiger Bakterien aufgegangen

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanzordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
7 10. u. 11. Okt. 1901	gossen und durchgeschüttelt. Außer dem verschiedene Objekttr. beschickt und in verschiedener Weise aufbewahrt. Aufbewahrung geschieht bei dem Flaschenmaterial bei Zimmertemper.			
12. Okt.	Witterung ziemlich kühl, T. mrgs. 7,3°	Bedeutende Abnahme der Zahl der Zahl der Mzbc. Größtenteils finden sich schwach gefärbte, unregelmäßig konturierte Stäbchen mit undeutl. Kapsel. Intakte, gut gefärbte und differenzierte Mzbc. nicht mehr nachweisbar in den nach den verschiedenen Färbemethoden hergestellten Präparaten	<p>Im Ausgangsmaterial Mzb. in mehreren Kolonien aufgegangen, starke Ueberwucherung mit Fäulniskeimen</p> <p>Mzb.-Material in vorher mit Sublimat angespülter Flasche v. 9. Okt. } mehrere makroskop. erkennbare Mzb.-Kolon. mit unzähl. ander. aufgegangen</p> <p>desgl. Flasche ausgespült mit 3-proz. Karbolsäure } negativ</p> <p>Mzb.-Material in Flasche mit 2-proz. NaCl-Lösung übergossen v. 10. Okt. } "</p> <p>desgl. mit Aqu. dest. v. 10. Okt. } "</p> <p>Eingetrockn. Mzb.-Mater. auf Objektträger im Eisschrank aufbew. v. 9. Okt. } viele Mzb.-Kolonien getrennt aufgegangen</p> <p>desgl. v. 10. Okt. } desgl. viele Mzb.-Kolonien</p> <p>desgl. v. 11. Okt., noch nicht eingetrocknet } desgl.</p> <p>Mat. auf Objekttr. verm. mit 2-proz. NaCl-Lösung und langsam der spontanen Eintrocknung bei 20° überlassen v. 9. Okt. } viele Mzb.-Kolon. positiv, jedoch nicht so auffallend wie in dem Objekttr.-Mat. ohne Zusatz</p> <p>desgl. v. 10. Okt. } desgl.</p> <p>desgl. v. 11. Okt., noch nicht eingetrocknet } desgl.</p> <p>Mzb.-Material auf Objektträgern ohne Zusatz, bei Zimmertemper. rasch eingetrockn. v. 9. u. 10. Okt. } viele getrennte Kolonien aufgegangen</p> <p>desgl. vermisch mit Aqu. dest., noch nicht eingetr. } nur wenige Mzb.-Kolon. unter zahlreichen anderen</p>	
13. Okt.	Bedeckt, neblig, T. 10,3°, M. 15°	In den Ausstrichen Mzbc. oder deren Reste nicht mehr nachweisbar	Platten vom Ausgangsmaterial negativ	
16. Okt.	Wolkig, T. 10,3°, MT. über 15°	In Ausstrichpräparaten des Mzb.-Materialies in der mit Sublimat ausgespülten Flasche verein-	<p>Mzb.-Mat. in Flasche mit 2-proz. NaCl-Lösung vom 9. Okt. bei Zimmertemper. (20°) aufbewahrt</p> <p>desgl. v. 10. u. 11. Okt. } negativ</p>	

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
7	16. Okt.		zelle, gut gefärbte Mzbc. erkennbar, in dem Material der Karbolflaschedahin- gegen nicht. (Fixation des Protoplas- mas der Mzbc. durch Sublimat.)	Mzb.-Mat. in Flasche mit Sublimat ausgespült } negativ desgl. Karbol } Mzb.-Mat. in Flasche + } Aqu. dest. v. 10. u. 11. Okt. } Objektr.-Mat. ohne Zusatz } in der inneren Rocktasche } 48 Stunden transportiert } (im Fließpapierumschlage } eingetrocknet) v. 9. Okt. } } viele getrennte Mzb.-Kolonieen desgl. v. 10. Okt. offen } Mzb.-Kol. aus Blutstückchen heranwachsend desgl. v. 11. Okt. ohne Zu- } mehrere Mzb.-Kol. satz im Eisschrank } desgl. v. 11. Okt. ohne } viele getrennte Zusatz offen } Kolonieen Objektr.-Mat. mit NaCl- } mehrere Mzb.- Zusatz v. 9. Okt. in der } Kolonieen Rocktasche transportiert } desgl. v. 10. Okt. NaCl, } Eisschrank offen, Mzb.- } negativ, Blutstück- Material eingetrocknet } chen steril desgl. v. 11. Okt. im Eisschr. } desgl. Mzb.-Mat. auf Objektr. } vermischt mit Aqua dest. } im Eisschr. offen v. 10. Okt. } desgl. aufbewahrt bei 20° } vor Eintrocknung geschützt } v. 10. Okt. } negativ Mzb.-Mat. + Aqua dest. } auf Objektr. v. 11. Okt. } bei Zimmertemperatur } wenige Mzb.-Kolo- } nieen u. viele andere
	17. Okt.	Das in verschiedener Weise aufbewahrte Mzb.-Material eine Stunde lang im Wasserbade auf 70—75° erhitzt und alsdann zu Platten ausgegossen zum Sporennachweis (mit reichlicher Material- verwendung)		Mzb.-Mat. in Flasche mit Sublimat v. 9. Okt. } 2 Kol. v. Hefezellen desgl. m. Karbols. v. 9. Okt. } Mzb.-Mat. in Flasche mit } 2-proz. NaCl-Lösung vom } 9. Okt. } steril desgl. v. 10. Okt. } desgl. v. 11. Okt. } desgl. Aqua dest. v. 11. Okt. } Objektr.-Mat. ohne Zusatz } in der Rocktasche aufbe- } wahrt v. 9. Okt. } desgl. im Eisschrank auf- } bewahrt v. 9. Okt. } steril desgl. mit NaCl-Zusatz in } der Rocktasche aufbewahrt } v. 9. Okt. } desgl. mit NaCl-Zusatz im } Eisschrank v. 9. Okt. } Objektr.-Mat. ohne Zusatz } v. 10. Okt. bei 20° und im } Eisschrank aufbewahrt } desgl. mit NaCl-Zusatz v. } 10. Okt. bei 20° vor Eintr. } geschützt und desgl. im } Eisschrank } steril

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
8	4. Nov. 1901		<p>In den Ausstrichen nach Johne, Klett, Olt keine Mzbc. mehr nachweisbar. Dahingegen sind in dem mit Sublimat und Karbol versetzten Mzb.-Material Mzbc. noch nachweisbar. In den Ausstrichen des mit Karbol versetzten Materials zeigen die Mzbc. starken körnigen Zerfall, lückenhafte Färbung und vollständigen Zerfall der Zellkerne der Milzzellen zu unregelmäßigen, diffus sich färbenden Chromatinmassen. In der mit Sublimat versetzten Probe zeigen sich die Mzbc. und Zellkerne schön und satt gefärbt. Auch die Kapseln treten deutlich hervor. Die Milzzellen und die Mzbc. sind wie Gewebsstücke unter der Einwirkung des Sublimats fixiert und zeigen sich infolgedessen noch nach 4 Wochen in den angefertigten Präparaten gut differenziert und intakt, während in der Karbolprobe vollkommene Auflösung eingetreten ist</p>	<p>Ausgangsmaterial: in Platten I, II, III kein Mzb. aufgegangen Objekttr.-Mat. v. 1. Nov. } viele isolierte bei 20° schnell eingetr. } Mzb.-Kolon. desgl. v. 2. Nov. } desgl. Objekttr.-Mat. v. 1. Nov. } vereinzelte im Eisschrank } Mzb.-Kol. unter } vielen anderen</p>
	10. Nov.			<p>Eingetrockn. Mat. auf Objekttr. v. 1. u. 2. Nov. } viele isolierte aufbewahrt bei 20° } Mzb.-Kolonieen Desgl. 1. Nov. Eis- } negativ, viele schrank langsam einge- } andere Kolonieen trocknet</p>
	14. Nov.			Dasselbe Resultat wie am 10. Nov.
	26. Nov.			Platten: Keine Mzb.-Kolonieen, vereinzelte Kolonieen von Staphylokokken und kleinen Stäbchen

Lfd. No Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
9 18. Okt. 1901	Schaf intravenös zu Demonstrationszwecken mit Mzb.-Kultur geimpft. † n. 50 Std. am 17./18. Okt. 18. Okt. Untersuchung des Ohrvenenblutes auf das Vorhandensein von Mzb. Kadaver bleibt uneröffnet im geheizten Zimmer bei 17° C 24 Stunden liegen	Ohrvenenblut. Mzbc. mit schöner Kapsel in größerer Zahl. Nachweis leicht	
19. Okt.	Am 19. Okt. Eröffnung des aufgetriebenen Kadavers. Mäßige Fäulnisercheinungen. Am 20. u. 22. Okt. Objektträger mit Milzpulpa dick bestrichen und eintrocknen lassen	In den Ausstrichpräparaten von Milzpulpa und Venenblut Mzbc. mit Sicherheit nicht mehr nachweisbar. Es finden sich in den Milzausstrichen plumpe Stäbchen mit endständigen Sporen (anaërob) in größerer Zahl. In den meisten Präparaten auch nicht die Spur von Mzbc. mehr nachweisbar. Von 48 angefertigten Präparaten finden sich nur in 2 Präparaten ganz vereinzelt intakte Mzbc.	Platten aus Milzpulpa gehen nur sehr wenige Mzb.-Kolonieen, jedoch in Reinkultur, auf. Platte I trotz reichlicher Aussaat nur 3 typ; Mzb.-Kolonieen
22. Okt.		Negativ	Mzb. durch Plattenkultur im Ausgangsmaterial nicht mehr nachweisbar
23. Okt.			Eingetrockn. Mzb.-Mat. auf Objekttr. v. 20. Okt. aufbewahrt im Eisschr. } positiv mehrere isolierte Mzb.-Kol. Desgl. v. 20. Okt. aufbewahrt bei Zimmert. } desgl. Mzb.-Mat. v. Objekttr. ang. 22. Okt., aufbew. bei Zimmertemperatur } negativ Desgl. Eisschränk }
3. Nov.			Mzb.-Mat. v. Objekttr. 20. Okt. Zimmertemp. u. 20° Eisschränk } positiv, mehrere isolierte Mzb.-Kol. Desgl. v. 22. Okt. } negativ
10. Nov.			Objekttr.-Mat. v. 20. Okt. aufbew. b. Zimmertemp. und im Eisschränke } mehrere Mzb. Kol. nach 48 Std.

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattencultur
10	20. Febr. 1902	Kuh † 20. Febr. an Mzb. Sektion sofort nach dem Tode. Ein Stück der stark geschwollenen Milz in einem ungeheizten Raume bei einer Temperatur von -4° bis $+3^{\circ}$ in einer bedeckten Glasschale aufbewahrt	Intakte Mzbc. mit deutlich hervortretender Kapsel bis zum 7. Tage in großer Zahl vorhanden. Von da an ist eine Kapsel um die noch ziemlich intakten Mzbc. färberisch nach den verschiedenen Methoden nicht mehr so gut darzustellen. Peripherer Zerfall u. Abnahme der Zahl der Mzbc. ganz allmählich. Erst vom 8. Tage an treten in geringer Zahl große Kapselkokken und Streptokokken auf. Mzbc. bis zum 12. Tage am 2. März 1902 mit einiger Sicherheit an den Kapselüberresten zu erkennen. Von da ab mit dem Umschlage der Witterung rapide Vermehrung der Fäulnisstäbchen, Zerfall der Mzbc., welche nur noch als schwach gefärbte Striche in geringer Zahl vorhanden sind	Bis zum 27. Febr. in den Platten Mzb.-Kolonien in großer Zahl meist in Reinkultur aufgehend
	3. März		Mzbc. als solche an den Kapselanderungen noch schwach erkennbar, doch unsicher. Fäulnisstäbchen in längeren Verbänden treten auf	In den Platten Mzb.-Kolonien unter vielen anderen noch deutlich hervortretend Platten positiv
	4. März		Mzbc. in dem starken Bakteriengemisch nicht mehr erkennbar	Platten positiv, starke Ueberwucherung mit Fäulnisbakterien
	6. März		Negativ	Mzb.-Kolonien noch aufgegangen
	8. März		"	Platten aus dem Ausgangsmaterial negativ
	15. März			Eingetrockn. Mzb.-Mat. auf Objektträger vom 20. und 21. Febr. } positiv, in größ. Zahl isolierte Mzb.-Kolonien
	18. März			Desgl. } positiv, 2 bzw. 3 Mzb.-Kol. aufgegeg.

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
	1021. März 1902			Negativ, Blutpartikelchen meistens steril, nur 2 Kolonien von Staphyl. albus
	22./23. Febr. 1902	auf dem Schlachthofe zu B. 2 Rinder an Milzbrand krepirt		
11	23. Febr.	Kuh No. 1 † am 23. Febr. morgens. Sek-tion bald nach dem Tode. Kadaver noch warm. Typischer Darmmilzbrand mit starkem Milztumor.	Viele Mzbc. in Milz und Ohrvenenblut mit deutlicher Kapsel, letztere namentlich schön hervorstechend	Platten aus Milzpulpa und Ohrvenenblut: Viele Mzb.-Kolonien
	24. Febr.	Milz aufgewahrt in einer Glasschale bei	Desgl.	Desgl.
	25. Febr.	Zimmertemperatur von 20—22°C, offenstehend. Auf Objektträgern in dicker Schicht Milzpulpa aufgetragen	Zahl der Mzbc. abnehmend, Bakterienleib Lücken aufweisend. Kapsel an den intakten Stäbchen weniger deutlich hervortretend. Leere Kapseln mit Chromatinresten in größerer Zahl vorhanden. Fäulnisstäbchen in mäßiger Zahl stellenweise in kleineren Häufchen zusammenliegend, treten auf	Platten positiv
	26. Febr.		Gut differenzierte Mzbc. nicht mehr nachweisbar. Leere Kapseln mit Chromatinresten in mäßiger Zahl noch vorhanden. Fäulnisstäbchen gut gefärbt, in Größe und Form ähnlich den Mzbc., treten neben anderen sekundären Bakterien in größerer Zahl auf	Mzb.-Kolonien in größerer Zahl noch aufgegangen
	27. Febr.		In den Ausstrichpräparaten Mzbc. mit Sicherheit nicht mehr nachweisbar. Starker Gehalt von Fäulnisbakterien. Leere Kapseln nicht mehr erkennbar	2 Mzb.-Kolonien in den stark überwucherten Mzb.-Platten nachgewiesen

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
11	28. Febr. 1902		Ausstrichpräparate negativ	Ausgangsmaterial: Platten negativ, desgl. Prüfung auf Sporenbildung
	4. März			Eingetrockn. Mat. auf Objektträger vom 23. } positiv, viele isolierte Mzb.-Kolonieen desgl. Desgl. vom 24. }
	10. März			Objektttr.-Mat. vom 23. } 23 isol. Mzb.-Kolonieen " " 24. } 13 Mzb.-Kolonieen und andere in größerer Zahl
	15. März			Objektttr.-Mat. vom 23. } 8 isol. Mzb.-Kolonieen " " 24. } 2 typ. Mzb.-Kol. unter mehreren anderen
	18. März			Objektttr.-Mat. vom 23. } 4 isol. Mzb.-Kolonieen " " 24. } negativ
	20. März			Objektttr.-Mat. vom 23. } 4 Mzb.-Kolonieen " " 24. } negativ
12	23. Febr.	Kuh No. 2 † 22. Febr. gegen Mittag. Sektion etwa 20 Std. nach dem Tode, 23. Febr. Fäulnis eingetreten: Milztumor wenig auffallend. Veränderungen am Darms wenig ausgeprägt. Es besteht eine schwache, fleckförmige Rötung der Dünndarmschleimhaut, welche sich äußerlich nicht markiert. Gekrösdrüsen wenig geschwollen, Gekrösvenen treten nur wenig gefüllt hervor. Darminhalt nicht blutig. Lunge schwarzrot, stark bluthaltig. Petechien am Epicard und Endocard. Glottisödem	In den Milzausstrichen plumpe Fäulnisstäbchen mit endständigen Sporen, außerdem ganz vereinzelt Stäbchen von Größe und Gestalt der Mzbc., jedoch ohne Kapsel. In den Blutaussstrichen von peripheren Venen einzelne Fäulnisstäbchen, keine Mzbc. In den Lungenblutaussstrichen starker Bakteriengehalt, Kapselstäbchen darunter nicht zu erkennen. Gleichen negativen Befund ergeben Ausstrichpräparate aus den wenig geschwollenen Gekrösdrüsen. Durch Ausstrichpräparate ist somit die Diagnose „Milzbrand“ nicht mit Sicherheit zu stellen	In den mit Ohrvenenblut und Milzpulpa angelegten Platten gehen in geringer Zahl Mzb.-Kolonieen auf
	24. Febr.		Ausstrichpräparate aus Milz und Ohrvenenblut vollkommen negativ bzgl. des Vorhandenseins von Stäbchen, welche man als Mzbc. ansprechen könnte. Zahl der Fäulnisstäbchen (anaërob) zugenommen	Platten aus Milz, 3 Mzb.-Kolonieen neben mehreren anderen

Int. No. Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
12 25. Febr. 1902 28. Febr. 2. März 4. März		Ausstrichpräparate negativ	Negativ, keine Mzb.-Kolonieen mehr aufgegangen; in großer Zahl Kolonieen von Fäulnisbakterien Objektträger-Mat. ein- } mehrere isolierte Mzb.- getrocknet v. 23. Febr. } Kolonieen Desgl. } 3 Mzb.-Kolonieen, die } meisten Blutpartikel- } chen steril geblieben Desgl. } keine Mzb.-Kolonieen } mehr aufgegangen
13 15. März	Am 15. März morgens Schaf im Stalle des Schlachthofes zu B. an Mzb. krepirt. Ausfluß von blutigem Schaum aus der Nase. Beim Abhäuten fällt die blutig durchtränkte Beschaffenheit der	In den Milzausstrichen typische Mzbc. mit deutlicher Kapsel in mäßiger Zahl vorhanden. Ohrvenenblut Mzbc. mit schöner Kapsel in reichlicher Menge vorhanden	Mzb.-Kolonieen in großer Zahl
16. März	Haut, Unterhaut u. Muskulatur an der linken Brustwand auf, welche sich bis auf die Bauchdecken erstreckt. Petechien auf den serösen Häuten und Entzündung des Darmes fehlen.	Zahl der Mzbc. abgenommen. Kapsel wenig deutlich. Stäbchen meistens zu 1 und 2, nicht in längeren Verbänden vereinigt. Die Einzelglieder länger wie gewöhnlich	Desgl.
17. März	Dünndarmschleimhaut nicht geschwollen und gerötet. Dünndarm durch Gase etwas aufgetrieben, enthält gelbgefärbten, übelriechenden Kot. Inhalt des Dickdarmes und Mastdarmes normal. Gekrösdrüsen nicht geschwollen, im Verlaufe der Gekrös-	Stäbchenzahl weiter abgenommen, Kapsel undeutlich. Stäbchen einzeln, nicht in Verbänden, Enden daher abgerundet. Ohrvenenblut viele Stäbchen, Mzbc.-ähnlich, darunter wenige charakteristische Mzbc.	Mzb.-Kolonieen in größerer Menge, stark überwuchert
18. März	venen Blutungen zwischenden Gekrösblättern nicht vorhanden. Milz stark	Mzbc. in der Milz und Ohrvenenblut nicht mehr nachweisbar	Plattenkultur aus Milz und Ohrvenenblut des abgeschnittenen und trocken aufbewahrten Ohres positiv
19. März	geschwollen, Pulpa schwarzrot, zerfließlich. In der Mitte	Ausstriche negativ	Platten aus Milz und dem stark eingetrockneten Ohrvenenblut positiv
21. März	der Milz befindet sich unter der Kapsel ein hühnereigroßer, blutiger Herd (Milzzerreibung). Lungen mit blutigem Schaum gefüllt. Herzblut	Desgl.	Milzplatten negativ. Aus Ohrvenenblut (eingetrocknet, mit der Vene aus dem stark eingetrockneten Ohre herausgeschnitten und in einer Petrischen Schale mit etwas steriler Bouillon aufgeschwemmt und mit verflüssigtem Agar übergossen) gehen mehrere Mzb.-Kolonieen auf

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur														
13	21. März 1902	nichtgeronnen. Glottisödem. An der äußeren Halsseite besteht jedoch kein blutiges Oedem. Befund wie bei einem infolge traumatisch. Einwirkung auf dem Transporte (Treten) gestorbenen Tiere. Nur das Glottisödem war suspekt. Milz in Glasschale bei 20—22° aufbewahrt																
	20. März	Vom 15.—19. März. Mit der Milzpulpa werden Objektträger in dicker Schicht bestrichen und auf die Schnittfläche von altbackenen Weißbrötchen Milzbrandmaterial aufgetragen. Ein Teil der Brötchen bleibt trocken, ein anderer wird mit 22-grad. Leitungswasser angefeuchtet. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur von 20—22°. Vom 20. März an Prüfung des in verschiedener Art konservierten Mzb.-Mat.		<p>Eingetrockn. Mzb.-Mat. auf Objekttr. aufbewahrt bei Zimmertemp. und im Eissschranke</p> <table border="0"> <tr> <td>vom 15.</td> <td rowspan="5">} positiv</td> </tr> <tr> <td>" 16.</td> </tr> <tr> <td>" 17.</td> </tr> <tr> <td>" 18.</td> </tr> <tr> <td>" 19.</td> </tr> </table> <p>negativ</p>	vom 15.	} positiv	" 16.	" 17.	" 18.	" 19.								
vom 15.	} positiv																	
" 16.																		
" 17.																		
" 18.																		
" 19.																		
	22. u. 26. Februar			Dasselbe Resultat														
	25. März	Prüfung der beschickten Weißbrötchen auf Mzb.-Keime. 2 reichl. Aufschwemmungen in Bouillon, 1 nicht erhitzt, 1 auf 70° eine Stunde lang erhitzt. Desgl. eine Aufschwemmung des Ausgangsmaterials (Milz) aufbewahrt bei 20° in einer Glasschale, 1 Std. erhitzt und Kontrollplatten angelegt		<table border="0"> <tr> <td>Brötchen trocken 15. März</td> <td rowspan="3">} 3 Mzb.-Kolonien unter vielen anderen</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 16. März</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 17. März</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 18. März</td> <td rowspan="2">} 1 Mzb.-Kolonie unter vielen anderen</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 18. März</td> </tr> <tr> <td>Brötchen trocken 15. März, Aufschwg. 1 Std. 70° erhitzt</td> <td rowspan="3">} steril</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 16. März</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 17. März</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 18. März</td> <td rowspan="2">} 1 Kolonie von plumphen, sporenbildenden Stäbchen</td> </tr> <tr> <td>Desgl. 18. März</td> </tr> </table> <p>negativ</p>	Brötchen trocken 15. März	} 3 Mzb.-Kolonien unter vielen anderen	Desgl. 16. März	Desgl. 17. März	Desgl. 18. März	} 1 Mzb.-Kolonie unter vielen anderen	Desgl. 18. März	Brötchen trocken 15. März, Aufschwg. 1 Std. 70° erhitzt	} steril	Desgl. 16. März	Desgl. 17. März	Desgl. 18. März	} 1 Kolonie von plumphen, sporenbildenden Stäbchen	Desgl. 18. März
Brötchen trocken 15. März	} 3 Mzb.-Kolonien unter vielen anderen																	
Desgl. 16. März																		
Desgl. 17. März																		
Desgl. 18. März	} 1 Mzb.-Kolonie unter vielen anderen																	
Desgl. 18. März																		
Brötchen trocken 15. März, Aufschwg. 1 Std. 70° erhitzt	} steril																	
Desgl. 16. März																		
Desgl. 17. März																		
Desgl. 18. März	} 1 Kolonie von plumphen, sporenbildenden Stäbchen																	
Desgl. 18. März																		

Lfd. No. Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion. Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
13 25. März 1902			Brötchen naß 15. März } Desgl. 16. März } viele Mzb.-Kolonieen Desgl. 17. " } Desgl. 18. " } Mzb.-Kolonieen unter vielen anderen erkenn- bar Brötchen naß 1 Std. } 70° erhitzt 15. März } viele Mzb.-Kolonieen Desgl. 16. März } Desgl. 17. " } Desgl. 18. " } wenige Mzb.-Kolon.u Heubacillenkolonieen aufgegangen Also lebhaft e Sporenbildung eingetreten Aufschwemmung von } negativ, keine Mzb.- Ausgangsmaterial, } Kolonieen, mehrere Kol- 1 Std. 70° erhitzt } lonieen plumper sporen- bildender Stäbchen
4. April			Mzb.-Mat. eingetrockn. } viele isolierte Mzb.-Kol. Objekttr. 15. März } als solche leicht er- Desgl. 16. März } kennbar Desgl. 17. " } Mzb.-Kolonieen unter Desgl. 18. " } vielen anderen Desgl. 19. " } negativ Mzb.-Mat. eingetrockn. } 1 Mzb.-Kolonie unter auf Brötchen 15. März } vielen anderen Desgl. 16. März } negativ, viele andere Kolonieen Mzb.-Mat. eingetr. Bröt- } negativ, 2 Kolonieen chen 70° 1 Std. erhitzt } sporenbild. Stäbchen 15. März } Desgl. 16. März } negativ, 1 Kolonie Heubacillen Mzb.-Mat. auf Brötchen } viele Mzb.-Kolonieen feucht erhalten 15. März } unter vielen anderen Kolonieen Desgl. 16. März } desgl. Mzb.-Mat. auf Brötchen } viele Mzb.-Kolonieen (feucht) in Aufschw. } unter den mit gewach- 1 Std. lang auf 70° er- } senen Heubacillenkolo- hitzt 15. März } nieen Desgl. 16. März } desgl. Desgl. 17. " } desgl. Aufschwemmung von } Ausgangsmat. (Milz) } Platten negativ 1 Std. 70° erhitzt }

Nachtrag zu Versuch No. 11.

23. Febr. 14 noch nicht ge-
 brauchte, sterile
 Rattengefäße wer-
 den mit Erde ge-
 füllt: 2 mit gelbem
 Sande, 2 mit schwar-
 zer Gartenerde und
 in jedem Gefäße

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchsanordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
13	<p>23. Febr. 1902 etwa 5 cm unter der Oberfläche ein Stück Milz vergraben. Je 1 Gefäß mit Sand und Humuserde wird mit 22° warmem Leitungswasser übergossen, die anderen beiden nicht. Aufbewahrung der 4 mit Mzb.-Material beschickten Gläser und des Ausgangsmaterials geschieht bei 22° im stark geheizten Raume</p> <p>1. März, Platten gegossen 25. März, nach Erhitzung der betr. Aufschwemmungen in Bouillon 1 Stunde lang auf 70° 4. April</p>			<p>Im Ausgangsmaterial, in einer Glasschale aufbewahrt, keine Milzbrandsporen durch Plattenaussaat nach vorheriger Erhitzung 1 Stunde auf 70° nachgewiesen</p> <p>Aufschwemmung v. Mzb.-Mat. in feuchter Gartenerde nach 1-stünd. Erhitzung auf 70° } viele Mzb. Desgl. in feucht. Sande } negativ Desgl. in trockener Gartenerde } " Desgl. in trock. Sande } "</p>
14	<p>16. Juni</p> <p>7. und 10. Juli</p>	<p>Rind † 16. Juni Mzbc. mit schön hervortretender Kapsel einzelten anderen Kolonien. Der Nachweis am 16. Juni mittags, in großer Zahl fast von Mzb.-Kolonien gelingt in dem Ausgangsstück Milz in einer Reinkultur vor-materiale ohne Erhitzung auf 70° bis zum noch nicht benutzten handen. Der Nachweis der Mzbc. ge-Kolonien durch die unzähligen anderen Kolonien. Witterung lingt mit Sicherheit nien von Fäulnisbakterien überwuchert werden trocken, kühl. Das bis zum 5. Tage, und der Erkennung sich entziehen. Nach vor-Material wird in 2 Kapselüberreste lasheriger Erhitzung 1 Stunde lang auf 70° gehen Glasschalen verteilt, sen sich bis zum 7. jedoch in den mit dem Ausgangsmateriale be-Die eine Probe bleibt Tage in größerer schickten Platten isolierte Mzb.-Kolonien in zur Kontrolle, die Zahl nachweisen mäßiger Zahl auf. Es hat demnach eine Bildung von Mzb.-Sporen stattgefunden</p> <p>andere wird mit warmem Wasser übergossen. Die Aufbewahrung geschieht bei Zimmertemperatur über 20° C. Am 17. u. 18. Juni werden Objektträger beschickt u. das Mzb.-Material der spontanen Eintrocknung bei Zimmertemperatur überlassen</p>		<p>Am 7. Juli und 10. Juli Plattenbefund derselbe. Durch Erhitzung des Aussaatmaterials Sporenbildung in beschränktem Umfange in dem Ausgangsmateriale nachgewiesen, während in der mit Wasser versetzten Probe eine reichliche Bildung von Mzb.-Sporen stattgefunden hat</p> <p>Eingetrockn. Mat. auf Objekttr. v. 7. Juli } viele isolierte Mzb.-Kolonien Desgl. v. 8. Juli } desgl. in geringerer Zahl</p>

Lfd. No.	Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Olt	Plattenkultur
14	20. Juli 22. Juli			Objekträger-Mat. vom } mehrere Mzb.-Kolonien 7. Juli } steril Desgl. vom 8. Juli } Objekträger v. 7. Juli } steril
15	15. Sept. 1902	Meerschweinchen † an Impf-Mzb. nach 2 ¹ / ₂ Tagen. Aus Leber, Milz, Nieren, Lunge, Herzblut, stark bacillenhaltig, wird durch Zerreiben eine breiige Masse hergestellt, welche auf 5 Petrischalen verteilt wird. Je 1 Probe des frischen Mzb.-Materials wird mit Aqua dest., Aq. fontana und 2-proz. NaCl-Lösung übergossen und mit 1 Probe ohne Zusatz bei einer ständigen Temperatur über 20° in einem geheizten Zimmer, vor Verdunstung geschützt, aufbewahrt, während die 2. Probe ohne Zusatz auf 2 Tage in den Eisschrank gestellt und erst dann der hohen Außentemperatur zusammen mit den 4 ersten Proben ausgesetzt wird		
22	22. Sept. 1902	Prüfung auf Sporenbildung nach vorheriger Erhitzung der Aufschwemmungen 1 Stunde lang auf 70°.	1) Mzb.-Mat. mit Aqua dest. übergossen 2) Mzb.-Mat. mit Aqua font. übergossen 3) Mzb.-Mat. mit 2-proz. NaCl-Lösung übergossen 4) Ausgangsmaterial ohne Zusatz von Anfang bei hoher Außentemperatur aufbewahrt 5) Ausgangsmaterial 2 Tage zuvor im Eisschrank aufbewahrt und dann hoher Außentemperatur ausgesetzt	} unzählige Mzb.-Kolonien } desgl. } desgl. } ca. 250 Mzb.-Kol. gut erkennbar aufgegangen } nur 4 Mzb.-Kolonien
23	23. Sept. 1902	M. o. A., sporenhalt. Mzb.-Mat. aus Kontrollschale bei Zimmertemp. aufbew. subkut., † 27. Sept., kein Mzb. Bac. d.		

Lfd. No. Datum	Tiergattung, Datum des Todes u. Datum der Sektion, Witterungsverhältnisse, Temperatur, Versuchs-anordnung	Ausstrichpräparate nach Johne, Klett, Ott	Plattenkultur
15		<p>Mäuseseptikämie aus Herzblut u. Milz rein aufgegangen. M. o. O. r., subkut. mit Mzb.-Mat. aus Schale mit Aqua dest.-Zusatz, + 24. Sept., kein Mzb. B. d. Mäuseseptikämie und kleine coliartige Stäbchen.</p> <p>M. o. bd. O., subkut., Mzb.-Mat. aus Schale mit 2% NaCl-Lösg., + 24. Sept., k. Mzb., Herzblut, Milz coliartige Stäbchen.</p> <p>M. o. O. l., kutan, Mzb.-Mat. aus Schale mit Aqua dest.-Zusatz, + 27. Sept., Mäuseseptikämie, k. Mzb.</p> <p>M. o. bd. O., blau gefärbt, kutan, Mzb.-Mat. aus Schale mit Aqua font.-Zusatz, negativ, überlebend.</p> <p>M. o. O. r., blau, kutan, Mzb.-Mat. aus Schale mit NaCl-Lösung-Zusatz, negativ, überlebend.</p>	
16 22. Sept. 1902	Kaninchen, + 36 Std. nach der Impfung an Mzb. Starker Bacillengehalt in Ohrvenenblut. Kadaver bleibt 24 Std. bei		
23. Sept. 1902	17° C liegen. Als dann Sektion und Wiederholung des Versuches der Sporulation durch Zusatz von Aqua dest., Aqua font. u. 2% NaCl-Lösung, wie bei dem vorigen Versuch (Buchnersche Methode.	Ausstrich von Milz u. Leber viele Mzbe. mit stellenweiser Andeutung der Plasmodium-Gehalt von Fäulnisstäbchen.	
28. Sept. 1902	Prüfung auf Sporenbildung. Durch Plattenaussaat nach vorheriger Erhitzung 1 Std. lang auf 70°.		Mzb.-Mat. Kontrollprobe ohne Zusatz negativ Mzb.-Mat. mit Aqua dest. negativ.
30. Sept. 1902	Prüfung auf Sporenbildung wiederholt.		" " Aqua font. negativ. " " 2-proz. NaCl negativ.
			Plattenkulturen negativ.

Datum	Versuchsmaterial	Impftiere, Ausgang der Impfung	Befund
5. Jan. 1902	4 Mzb.-Bouillonkulturen, 5 Wochen lang bei 42-43° C gezüchtet, auf ihre Virulenz geprüft	M. o. A. 2 Oes. } Mzb. Britz, s. } †	Mzb.-Septikämie
		M. o. O. r. 1 Oese } bei 42-43° } †	keine Mzbc. durch Kultur nachgewiesen. Starkes Oedem des Rückens.
		M. o. O. l. 2 Oesen } Mbz. Rixdorf } †	
		M. o. bd. O. 1 Oese } 42-43° } †	k. Mzbc. in Ausstrich und Kultur nachgewiesen.
		M. o. O. r. u. Schw. 1 Oese } Britz, Ausgangskultur nicht erhitzt, † 24 Std. } †	
		M. o. O. l. u. Schw. 1 Oese } Rixdorf, Ausgangskultur nicht erhitzt, † 26 St. } †	Mzb.-Septikämie.
		M. o. A. 2 Oes. } Mzb. Stamm } †	Mzb.-Septikämie.
		M. o. O. r. 1 Oese } bei 42-43° } †	wenige Mzb.-Kolonieen aus Herzblut aufgegangen.
		M. o. O. l. 1 Oese } kultiviert } †	
		M. o. O. l. 1 Oese } Mzb. aus Meerchw. } 2 Oes. } †	keine Mzbc. nachgewiesen.
11. Jan. 1902	Prüfung der 6 Wochen lang bei 42-43° gezüchteten 4 Mzb.-Stämme	M. o. A. Mzb. Britz 2 Oes. } †	Bei Verwendung von 2 Oesen zur Plattenaussaat bleiben die Platten steril. Als 0,26 cem zur Aussaat benutzt wurden, gehen aus der Kultur „Milzbrand Stamm“ 3 typische Mzb.-Kolonieen auf, die übrigen bleiben steril.
		M. o. O. r. „ Rixdorf 2 „ } über-	
		M. o. O. l. „ Stamm 2 „ } le-	
		M. o. bd. O. „ Meer- 2 „ } bend schw.	
13. Jan. 1902	Virulenzprüfung der auf- gegangenen Mzb.-Kolonieen und der zweiten Verdünnung einer vollvirulenten Mzb.-Kultur in Bouillon. Durch Plattenkultur mit 0,2 cem dieser zweiten Verdünnung wurde die Zahl der mit dieser Quantität verimpften Mzbc. festgestellt.	M. o. A. 1 Oese } Mzb.-Kultur } †	Mzb.-Septikämie
		M. o. O. r. 1 Oese } aus Platte } †	
		M. o. O. l. 1 Oese } Mzb. Stamm } †	Mzb.-Septikämie
		M. o. O. l. 1 Oese } Kultur aus } †	
		M. o. Schw. 1 „ } Maus-Mzb. } †	
		M. o. bd. O. 0,2 cem } Rixdorf } †	
M. o. bd. O. 0,2 cem } † 6. Tag } †	4.T. Platte 1, 0,2 cem, 7 Mzb.-Kolonieen.		
M. o. bd. O. 0,2 cem } Verdünnung } †			
M. o. bd. O. 0,2 cem } u. Schw. } †	6.T. Platte 2, 0,2 cem, 30 Mzb.-Kolonieen.		
Mzbc. spärlich im Herzblut vor-	Platte 3, 0,2 cem, 16 Mzb.-Kolonieen.		
handen, desgl. in Milzausstrichen			

Die Resultate meiner Untersuchungen lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen :

1) Der morphologische Nachweis der Milzbrandbacillen durch Ausstrichpräparate bietet in vielen Fällen für sich allein keine sichere Gewähr für eine richtige Diagnose des Milzbrandes.

2) Die diagnostische Milzbrandimpfung läßt häufig infolge antagonistischer Wirkung sekundärer Bakterien im Stiche.

3) Als die beste und sicherste Methode der bakteriologischen Diagnose des Milzbrandes ist das Plattenverfahren anzusehen.

4) Die Milzbrandbacillen können sich im eingetrockneten Blute, wie ich in Bestätigung der Momontschen Untersuchungen habe feststellen können, im Durchschnitt 36—50 Tage lebensfähig erhalten, in faulem eingetrockneten Blute oder Gewebssaft kürzere Zeit, aber immerhin noch durchschnittlich 8—20 Tage. Demzufolge ist die zweckmäßigste Aufbewahrungsart von Milzbrandmaterial behufs späterer Untersuchung das Eintrocknenlassen in dicker Schicht, da hierdurch eine größere Anzahl von Milzbrandbacillen konserviert wird und somit bei dem allmählichen Absterben derselben für verhältnismäßig lange Zeit das Vorhandensein von lebensfähigen Bacillen gewährleistet ist.

5) Bei Stagnieren der bacillenhaltigen Abgänge von Milzbrandkadavern auf undurchlässigem Boden gehen die Milzbrandbacillen unter der Einwirkung der Fäulniserreger zu Grunde, so daß eine Sporenbildung nicht eintreten kann.

6) Die Sporenbildung der Milzbrandbacillen wird durch vorübergehende Behinderung derselben infolge Einwirkung einer Temperatur unter 12° C oder durch anaerobe Verhältnisse ganz erheblich gestört, während die Eintrocknung auf die Sporenbildung keinen schädigenden Einfluß ausübt.

7) Der Milzbrandbacillus kann in einer stark verdünnten Blutlösung in destilliertem Wasser sich vermehren und Sporen bilden.

8) Die verhältnismäßig lange Widerstandsfähigkeit der Milzbrandbacillen im eingetrockneten Zustande und ihr geringes Nährstoffbedürfnis zur Vermehrung begünstigen das Stationärwerden des Milzbrandes.

Literaturverzeichnis.

- 1a) Koch, R., Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Mitteil. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. I. p. 49.)
- 1b) — —, Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen. (Ibid. Bd. I. p. 40.)
- 1c) Koch, R., Gaffky u. Loeffler, Experimentelle Studien über die künstliche Abschwächung der Milzbrandbacillen und Milzbrandinfektion durch Fütterung. (Ibid. Bd. II. p. 147.)
- 2) Weil, Zur Biologie der Milzbrandbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1899.)
- 3) Buchner, Ueber die Ursache der Sporenbildung. (Centralbl. f. Bakt. 1890.)
- 4) Schreiber, Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei *B. anthracis*, *subtilis* und *tumescens*. Inaug.-Diss. Basel 1896.
- 5) Kitt, Bakterienkunde. 3. Aufl. 1899. p. 260.
- 6) Johne, Zur Kenntnis der Morphologie der Milzbrandbacillen. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XIX. 1893. p. 244 ff. — Ibid. Bd. XX. 1894. p. 426 ff. — Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1894. No. 35.)
- 7a) Klett, Beiträge zur Morphologie des Milzbrandbacillus. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1894. p. 329.)
- 7b) — —, Eine Doppelfärbung des Milzbrandbacillus. (Ibid. 1894.)
- 8) Olt, Zur mikroskopischen Diagnostik des Milzbrandes. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1899. No. 1.)
- 9a) Koch, R., Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Mitteil. a. d. Reichsgesundheitsamt. p. 55.)
- 9b) Kitt, Bakterienkunde. 3. Aufl. 1899. p. 276.
- 10) Noetzel, Ueber den Nachweis der Kapseln an Mikroorganismen. (Fortschr. d. Med. 1896. p. 44.)

- 11) Tschernogoreff, Ein Beitrag zum Milzbrande des Schweines. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. p. 714.)
- 12) Schmidt, Milzbrand beim Pferde. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1897. No. 4.)
- 13a) Steinbach, Ist zur Diagnose des Milzbrandes die Obduktion erforderlich? (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1900. p. 481.)
- 13b) Lüpke, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1900. p. 495.
- 14) Arndt, Zur Milzbranddiagnose. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1899. p. 264.)
- 15) Berndt, Ueber die Veränderungen der Milzbrandbacillen in faulendem Rinderblute außerhalb des tierischen Körpers. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. 1900. p. 648.)
- 16a) Mehrdorf, Die Tenazität der Milzbrandbacillen gegenüber der Fäulnis. (Berl. Arch. f. Tierheilkunde. Bd. XXVI. p. 339.)
- 16b) — —, Nachkontrolle der Milzbranddiagnose. (Ibid. Bd. XXVII. p. 272 ff.)
- 17) Lange, Zur Milzbrandinfektion des Menschen. (Hyg. Rundschau. Bd. XI. No. 10.)
- 18) Fraenkel, C., Zum Nachweis der Milzbrandbacillen. (Hyg. Rundschau. Bd. XI. No. 13.)
- 19) Serafini, Sulla esistenza della capsula nel bacillo del carbonchio. (Estratto dal regresso medico. 1888. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht. 1888. p. 102.)
- 20) Kern, Ueber die Kapselfärbung des Anthraxbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. 1897. p. 166.)
- 21) Heim, Zur Milzbrandinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. XL. 1901. Ref. Centralbl. f. Bakt.)
- 22) Haase, Zur Morphologie des Milzbrandbacillus. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. XX. 1894. p. 429.)
- 23) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 1897. p. 5 ff.
- 24) — —, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900. p. 37.)
- 25) Koch, R., Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen. (Mitteil. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. I. p. 40.)
- 26) Emmerich u. Löw, Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 1. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 27) Charrin u. Guignard, Action du bacille pyocyanique sur la bactérie charbonneuse. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. 1899. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 28) Emmerich u. Saida, Ueber die pathologischen Veränderungen der Milzbrandbacillen bei ihrer Auflösung durch Pyocyanase.
- 29) Frank u. Lubarsch, Zur Pathogenese des Milzbrandes beim Menschen und Kaninchen. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1893.)
- 30) Tschernogoreff, Beitrag zum Milzbrand des Schweines. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. p. 714.)
- 31) v. Rätz, Der Milzbrand beim Schweine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. No. 9/10.)
- 32) Garth, Ueber Milzbrand beim Schweine. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1896.)
- 33) Moril, Milzbrand. (Zeitschr. f. Tiermedizin. 1890.)
- 34) Fiorentini, Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. p. 350.
- 35) Siebenrogg, Milzbrand oder Septikämie. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. Bd. VI. p. 109.)
- 36) Paul, Beitrag zur Diagnostik des Milzbrandes beim Rinde in jenen Fällen, wo scheinbar negative Blutbefunde vorliegen. (Tierärztl. Mitteil. Bd. XVII. 1894. p. 393.)
- 37) Fodor, Sitzung d. kgl. ungar. Akad. d. Wissensch. zu Budapest. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1887.
- 38) Buchner, Ueber die bakterientötende Wirkung des zellenfreien Blut-serums. (Centralbl. f. Bakt. Bd. V. No. 25.)
- 39) Nuttall, Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. p. 353. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 40a) Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889.)
- 40b) — —, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. (Ibid. Bd. VII. 1889.)
- 40c) — —, Ueber die Ursache der Immunität von weißen Ratten gegen Milzbrand. (Centralbl. f. klin. Med.)
- 41) Metschnikoff, Sur l'atténuation des bactéries charbonneuses dans le sang des moutons refractaires. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887. No. 1. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 42) Phisalix, Sur une variété de bacille charbon., à forme courte et asporogène. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. CXXXI. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)

- 43) Kostjurin u. Krainsky, Ueber Heilung des Milzbrandes. (Centrallbl. f. Bakt. Bd. X. p. 553.)
- 44) Emmerich u. di Mattei, Vernichtung der Milzbrandbacillen im Organismus. (Fortschr. d. Med. 1887. No. 20.)
- 45) Pawlowsky, Heilung des Milzbrandes durch Bakterien und das Verhalten der Milzbrandbacillen im Organismus. (Virchows Arch. Bd. CVIII. 1887.)
- 46) Doehle, Beobachtungen über einen Antagonisten des Milzbrandes. [Habilitationsschrift.] Kiel 1890. (Ref. Centrallbl. f. Bakt. 1890. p. 383.)
- 47) Mühlmann, Zur Mischinfektionsfrage. (Centrallbl. f. Bakt. Bd. XV. No. 23. Ref. Centrallbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894.)
- 48) Olitzky, Ueber den Antagonismus des *B. fluorescens liquefaciens* und seine hygienische Bedeutung. (Ref. Centrallbl. f. Bakt. 1893.)
- 49) Bouchard, Influence qu'exerce sur la maladie charbonneuse l'inoculation du bacille pyocyanique. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. CVIII. 1889. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 50) Woodhead et Wood, De l'action antidotique exercée par les liquides pyocyaniques sur la cours de la maladie charbonneuse. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. CIX. 1889. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 51) Roger, Influence des produits salubres du *Bac. prodigiosus* sur l'infection charbonneuse. (Compt. rend. de la soc. de biol. p. 375. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 52) Buchner, Ueber Hemmung der Milzbrandinfektion und über das aseptische Fieber. (Berl. klin. Wochenschr. 1890.)
- 53) v. Dungern, Ueber Hemmung der Milzbrandinfektion durch Friedländersche Bakterien im Kaninchenorganismus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVIII. 1894.)
- 54) Baumgarten u. Czaplewsky, Baumgartens Jahresbericht. 1890. p. 540.
- 55) Beco, Beitrag zum experimentellen Studium der Association des *Bac. anthracis* mit *Staphylococcus pyogenes*. (Centrallbl. f. allg. Pathol. No. 16. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 56) Frank, G., Ueber Mischinfektion beim Milzbrand. (Münch. med. Wochenschr. 1899. No. 9.)
- 57) Dietrich, A., Bernht die bakterienvernichtende Wirkung bakterizider Stoffwechselprodukte nach den von Emmerich und Löw dafür angeführten Beweisen auf proteolytischen Enzymen? (Centrallbl. f. Bakt. Bd. XXX. p. 574.)
- 58a) Klemperer, F., Ueber natürliche Immunität. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXI. 1893.)
- 58b) Gabritschewsky, Beitrag zur Frage der Immunität und der Heilung von Infektionskrankheiten. (Centrallbl. f. Bakt. Bd. X. p. 151.)
- 59a) Sobornheim, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der aktiven und passiven Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV. p. 391.)
- 59b) — —, Weitere Mitteilungen über die aktive und passive Immunität. (Berl. klin. Wochenschr.)
- 59c) — —, Weitere Untersuchungen über Milzbrandimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI.)
- 60) Chamberland et Roux, Atténuation de la bactériémie charbonneuse par les antiseptiques. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences. 1883. Zitiert nach Martel. Siehe 64.)
- 61) Surmont et Arnould, Recherches sur la production du bacille du charbon asporogène. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 62) Lehmann, Ueber Sporenbildung beim Milzbrand. (Münch. med. Wochenschr. 1887. No. 26.)
- 63) Gamaleia, Étude sur la vaccination charbonneuse. (Ann. de l'Inst. Pasteur. No. 10. p. 517. Zitiert nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 64) Martel, Recherches expérimentales sur la variabilité du *Bac. anthracis*. 1902.
- 65) Phisalix, Variabilité de la fonction sporogène du *Bacillus anthracis*. (Arch. de physiol. 1893. Cit. nach Baumgartens Jahresbericht.)
- 66) Arloing, Influence du soleil sur la végétation, la végétabilité, et la virulence des cultures du *Bac. anthracis*. (Compt. rend. Tome Cl. 535. Cit. nach Baumgarten. 1899.)
- 67) Lubarsch, Ueber Abschwächung von Milzbrandbacillen. (Fortschritte d. Medizin. 1888. No. 4.)
- 68) Momont, Action de la dessiccation, de l'air et de la lumière sur la bactériémie charbonneuse filamenteuse. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892. No. 6.)
- 69) Abel, Beobachtungen gelegentlich einer Milzbrandepidemie. (Centrallbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XVII. No. 56.)

- 70) Peuch, Des effets de la salaison sur la virulence de la viande du porc charbonneux. (Compt. rend. de l'acad. d. sc. T. CV. 1887. Cit. nach Arch. f. Tierheilk.)
- 71) Troitzky, Ueber die Lebensfähigkeit einiger pathogener Mikroorganismen auf Schwarz- und Weißbrot. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. p. 129.)
- 72) Galtier, Action de la glycérine sur le virus. (Journ. de méd. vétér. et de zootechn. 1902; Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI. No. 18.)
- 73) Soyka, Bakteriologische Untersuchungen über den Einfluß des Bodens auf die Entwicklung von pathogenen Pilzen. (Fortschr. d. Med. Bd. IV. 1886. p. 281.)
- 74) Kitasato, Untersuchung über die Sporenbildung der Milzbrandbacillen in verschiedenen Bodentiefen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890.)
- 75) Chauveau, De l'atténuation des cultures virulentes par l'oxygène comprimé. (Compt. rend. de l'acad. d. sc. Cit. nach Martel. 1884.)
- 76) — —, Les microbes ci-devant pathogènes n'ayant conservé, en apparence, que la propriété de végéter en dehors des milieux vivants, peuvent-ils récupérer leurs propriétés infectieuses primitives. (Ibid. Cit. nach Baumgarten.)
- 77) Kleprow, Ueber Wirkung niedriger Temperaturen auf die Anthraxbacillen. (Jahresbericht von Schütz u. Ellenberger. 1892.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein Eiterspirillum.

[Aus dem patholog. Laboratorium des Brincovanspitals in Bukarest.]

Von **D. Mezincescu.**

Mit 4 Figuren.

In einem Falle von Pyelitis calculosa, welcher vor kurzem von Herrn Dr. Leonte hier operiert wurde, fand ich zu meiner Ueberraschung ein vollständig reines Spirillum.

Die geringe Anzahl der Krankheiten, welche durch Spirillen hervorgerufen werden, wie auch die Tatsache, daß die pathogenen Spirillen zum größten Teile noch unzüchtbar geblieben sind, gestalten dieses Kapitel der Mikrobiologie zu einem der ärmsten.

Ogleich meine Kulturversuche in dieser Richtung nicht glücklicher ausfielen, meine ich doch, daß die Mitteilung darüber von einigem Nutzen sein könnte, und das um so mehr, als es sich hier meines Wissens noch um den ersten derartigen Fall eines Eiterungsprozesses handelt, wobei Spirillen vorkommen.

Die klinische Beobachtung dieses Falles erweckt kein besonderes Interesse. Der Kranke erzählt, daß er etwas vor einem Jahre eine Geschwulst in der rechten Seite des Nabels bemerkte, welche rasch bis zu ihrer heutigen Größe anwuchs und heute einen Tumor bildet, dessen unter Rand bis 5—6 cm vom Lig. inguinale reicht, während die obere Grenze bis zur 5. Rippe sich erstreckt.

Vor ca. 3 Monaten wurde in einem hiesigen Krankenhause eine Punktionsprobe vorgenommen, da man eine Hydatidengeschwulst der Leber vermutete. Dieselbe förderte eine blutige Flüssigkeit zu Tage, welche damals nicht weiter untersucht wurde.

Am 16. Februar dieses Jahres wurde der Kranke operiert und man erhielt eine große Menge eines dickflüssigen, geruchlosen Eiters von rotbrauner Farbe.

Im extrahierten Eiter fanden sich zahlreiche rankenförmige, dünne und schlanke Gebilde vor, welche an beiden Enden zugespitzt waren. Dieselben besaßen eine Länge von 3,60—8 μ und wiesen 2—9 spiral-

förmige, gleichgroße Windungen auf. Längere, 10—12 μ habende Gebilde kommen seltener vor.

Neben diesen Formen, von welchen 2—3 auf einem Gesichtsfelde sich befanden, erschienen auch noch mehrere intracelluläre Spirillen,

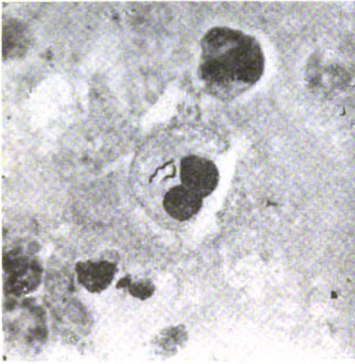


Fig. 1.
Phot. Ausstrichpräparate. Karbol-fuchsin.



Fig. 2. Fig. 3.
Phot. Ausstrichpräparate.

jedoch häufig nur als fragmentäre Formen, echte gekrümmte Stäbchen, welche 1—2 Krümmungen besitzen und dem *Vibrio cholerae* auffallend gleichen.

Sie färben sich nur schwer durch die gewöhnlichen Methoden, behalten aber sehr gut das Karbol-fuchsin, und färben sich nicht nach Gram.

Nach der Romanowskyschen Färbung (Fig. 4) erzielte ich wunderschöne Präparate. In diesem Falle erschien mit voller Deutlichkeit und Schärfe ein blaugefärbter Protoplasmakörper sowie einige chromatische, rotviolette Körper. Diese farbige Differenzierung erhielt ich auch bei den fragmentären Formen mit besonderer Klarheit.

Meine Kulturversuche blieben jedoch, wie eingangs erwähnt, erfolglos. Diese Art von Spirillen scheint auf keinem der gewöhnlichen Nährböden züchtbar zu sein. Die ausgedehntesten Kulturversuche auf Fleischwasserpepton, Ascitesflüssigkeit, Agar, Blutagar blieben gänzlich fruchtlos.

Die intraperitonealen Einspritzungen bei Mäusen, den einzigen Versuchstieren, die mir damals zur Verfügung standen, blieben ebenfalls ohne Erfolg.



Fig. 4. Romanowsky-sche Färbung.

Nachdruck verboten.

Ueber die Diphtherietoxinkurve.

[Aus dem Institut de Alfonso XIII in Madrid.]

Von **F. Murillo**, Abteilungsvorsteher.

Mit 4 Kurven.

In der Regel teilen die Fachschriftsteller in ihren Abhandlungen nur Spärliches über die Produktion der Diphtherietoxine mit.

Bei der Immunisierung verschiedener Pferde, die zur Produktion antidiphtherischen Serums bestimmt waren, hatten wir Gelegenheit, wirkliche Abweichungen in der Toxicität der Bouillon zu bemerken. Vom praktischen Standpunkte aus angesehen, waren diese Abweichungen tatsächlich mit plötzlichen, sehr wahrnehmbaren Intensitätsänderungen eines und desselben Toxins gleichbedeutend. Ein und dieselbe Kultur, in die nämliche Bouillon gesetzt, in demselben Brutschrank aufbewahrt und mit demselben Filter filtriert, tötete gleichwiegende Meerschweinchen, und zwar in einigen Fällen mit 0,007 ccm, in anderen mit 0,008, mit 0,009 oder mit 0,01, sogar auch bei größeren Dosen, trotzdem die Toxicitätsversuche in dem von den Fachschriftstellern angegebenen Zeitverlaufe vorgenommen wurden, d. h. zwischen der 3. und 4. Woche, zwischen dem 20. und 30. Tage des Verbleibens im Brutschrank.

Diese Abweichungen veranlaßten mich zu näheren Untersuchungen, welche danach strebten, das Verhältnis zwischen der Zeit des Verbleibens der Kulturen im Brutschrank (Alter der Kulturen) und der Toxinenintensität genau festzustellen.

In dieser Hinsicht sagen Roux und Martin¹⁾ in ihrer Arbeit von 1894 wörtlich: „Après trois semaines, un mois au plus, la culture est suffisamment riche en toxine pour être employée“. Die vorgenannten Forscher betrachten also einen 3wöchentlichen oder vielleicht gar einen 1monatlichen Zeitverlauf als notwendig für die maximale Toxinproduktion.

4 Jahre später veröffentlichte L. Martin²⁾ eine wichtige Arbeit, worin er hinsichtlich der neuesten von ihm ersonnenen Bouillon sagt: „Enfin la production de la toxine est très rapide; on a facilement une toxine active au $\frac{1}{10}$ après 30 heures et au $\frac{1}{50}$ de cc après 48 heures de culture. Le maximum de toxicité de la culture est atteint du 5e au 7e jour; elle tue alors le cobaye de 500 grms à la dose de $\frac{1}{200}$ de cc, soit 0,005 cc“.

In seiner letzten Arbeit über Diphtherie drückt sich Behring³⁾ in den folgenden Worten aus, die einzigen, welche er der Frage widmet: „Die Virulenz meiner Kultur ist nach eintägigem Wachstum eher stärker als in der zweitägigen Kultur . . . filtriert man am 8. Tage die Kultur, dann zeigt sich, daß das Filtrat fast den vollen +M Wert behalten hat.“

Unter anderen Fachschriften sei es mir gestattet, hier folgende zu erwähnen: L. Grimbert⁴⁾ beschränkt sich darauf, die von Martin

1) Roux, E. et Martin, L., Contribution à l'étude de la diphtérie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1894. No. 9.)

2) Martin, L., Production de la toxine diphtérique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. No. 1.)

3) v. Behring, E., Diphtherie. (Bibliothek von Coler. 1901.)

4) Grimbert, L., Les sérums thérapeutiques. 1899.

vorgebrachten Angaben zu wiederholen. A. Dieudonné¹⁾ faßt die Untersuchungen Behrings, Aronsons, Fränkels und anderer mit folgenden Worten zusammen: „Von der Wirksamkeit des Diphtheriegiftes hängt in erster Linie die Gewinnung eines hochwertigen Serums ab. Man läßt hierzu die Diphtheriebacillen im Brutschrank einige Wochen stehen und gibt dann Karbolsäure bis zu 1 Proz. zu, wodurch die Bakterien abgetötet werden“.

E. Max²⁾ hält eine Periode von „2—4 Wochen alten Bouillonkultur“ für geeignet.

In der Monographie von Joseph Naegel³⁾ wird die Frage nicht erwähnt und bloß auf der 25. Seite, bei der Zusammenfassung der Experimente, wird uns mitgeteilt, daß er vierwöchentliche Kulturen verwendete, und somit gibt er zu verstehen, daß sie als die toxinreichsten anzusehen seien.

Ganz ähnliche Meinungen werden auch von denjenigen Handbüchern der Bakteriologie ausgesprochen, welche teils direkter-, teils indirekterweise der Frage Erwähnung tun.

Um nun eine Feststellung des Verhältnisses zwischen dem Alter der Kultur und dem Maximum der Toxicität zu ermöglichen, habe ich einige Serien von Experimenten durchgeführt, welche für jede Serie darin bestanden:

1) in 12—15 Erlenmayer'sche Kolben gleicher Form und gleichen Inhalts dieselbe Bouillonquantität zu verteilen, so daß das Flüssigkeitsniveau den breitesten Teil der Flasche erreicht.

2) Jede Serie wird in annähernd gleicher Quantität mit Bacillen, welche aus einer 48-stündigen Kultur herzunehmen sind, besetzt.

3) Wenn die Zeit kommt, das Toxin einzuspritzen, Filtrieren der Kulturen durch dasselbe Verfahren und Messung mit den nämlichen Pipetten, die man vorher sterilisiert hat.

4) Wiegen und Untersuchen der Meerschweinchen alle 24 oder 48 Stunden.

Als allgemeine Bemerkung muß ich vorausschicken, daß die Bouillon für die Gewinnung von Toxinen immer von uns in derselben Weise hergestellt wird, nämlich aus leicht verdorbenem Kalbfleisch (Spronck). 5 g von ClNa per Liter, 2 Proz. Pepton Witte und Alkalisierung „Park and Williams“.

Da ich hier hauptsächlich beabsichtige, die Ergebnisse meiner Versuche zur Kenntnis zu bringen, behalte ich mir für eine geeignetere Gelegenheit vor, Ausführlicheres über die injizierten Meerschweinchen sowie über andere Besonderheiten und Experimente zu berichten, was Gegenstand einer Abhandlung in spanischer Sprache sein wird. Hier will ich nur die von mir sorgfältigst vorgenommenen drei letzten Serien kurz zusammenfassen, was mich in die Lage setzt, folgendes Prinzip aufzustellen: In einer Bouillon, deren Reaktion immer alkalisch bleibt, erzeugt der Diphtheriebacillus während der ersten Woche das Maximum von Toxinen; dieses Maxi-

1) Dieudonné, A., Schutzimpfung und Serumtherapie. 2. Aufl. 1900.

2) Max, E., Diagnostik, Serumtherapie u. Prophylaxe. (Bibliothek von Coler. 1902.)

3) Naegel, J., Ueber das Diphtheriegift, seine Konstitution, Herstellung und Wirkung. 1901.

zum hält sich in gleicher Höhe während der zweiten Woche und der ersten Tage der dritten, verliert aber beträchtlich an Stärke während der dritten Woche und der ersten Tage der vierten und gewinnt endlich plötzlich gegen die Mitte der vierten Woche die frühere Toxicität wieder, welche sodann aufs neue während der folgenden Tage allmählich wieder verloren geht.

Das Experiment erfolgt unter folgenden genauen Bedingungen:

a) für jede Serie muß dieselbe Bouillon und dieselbe Kultur gebraucht werden;

b) die Bouillon muß alkalisch genug sein, damit in keinem Augenblick im Verlaufe der 4 Wochen ihre alkalische Wirkung verloren geht;

c) die Kolben müssen die ganze Zeit in demselben Brutschrank bleiben.

d) die Meerschweinchen dürfen nicht ein Gewicht unter 250 g haben. Auch müssen sie, wenn möglich, untereinander einen Gewichtsunterschied von mehr als 25 g nicht zeigen, denn die allgemein angegebenen Grenzen — wenn auch für andere Zwecke — von 250—300 g sind viel zu weit. Ich habe bemerkt, daß ein Unterschied von 30 g von Bedeutung für die Resultate einer gleichen Toxindosis ist.

Merke man nun die Serien, welche mit derjenigen vom 21. September 1902 beginnen:

21. September 1902*).

Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat	Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat
250	3.	0,01 ccm	† 48				
265	5.	0,01 "	† 48				
265	7.	0,01 "	† 48				
260	7.	0,009 "	† 48				
300	10.	0,009 "	† 84	260	10.	0,008 ccm	lebt
250	12.	0,009 "	† 60	250	12.	0,008 "	lebt
250	17.	0,009 "	† 60	250	17.	0,008 "	lebt
260	19.	0,009 "	† 72	265	19.	0,008 "	lebt
275	21.	0,009 "	† 96	270	21.	0,008 "	lebt
255	24.	0,009 "	† 168	250	24.	0,008 "	lebt
285	26.	0,009 "	† 48	280	26.	0,008 "	† 60

Indem wir die Ergebnisse dieser Serie näher untersuchen, bemerken wir, daß am 3., 5. und 7. Tage das Toxin eine große Stärke erreichte; am 10. hatte es etwas verloren, am 17. Tage gewann es wieder das meiste der verlorenen Stärke zurück, am 24. Tage trat von neuem ein erheblicher Verlust ein, bis am 26. Tage die volle Intensität wieder gewonnen wurde.

Stellt man die Ergebnisse dieser Serie in eine Tafel von Ordonaten und Abscissen graphisch dar, so erhält man eine Kurve, welche dem Obengesagten genau entspricht.

*) † bedeutet, daß das Meerschweinchen krepirt nach den angegebenen Stunden, lebt, bedeutet, daß das Meerschweinchen nach 8 Tagen noch lebt. Ein für allemal muß ich bemerken, daß alle hier aufgezeichneten Tiere, nachdem sie krepirt, bei der Sektion die charakteristischen Merkmale zeigten (güßiges Oedem, pleuritisches Exsudat, Kongestion der Nebennieren etc.).

I. Kurve. 21. September 1902.

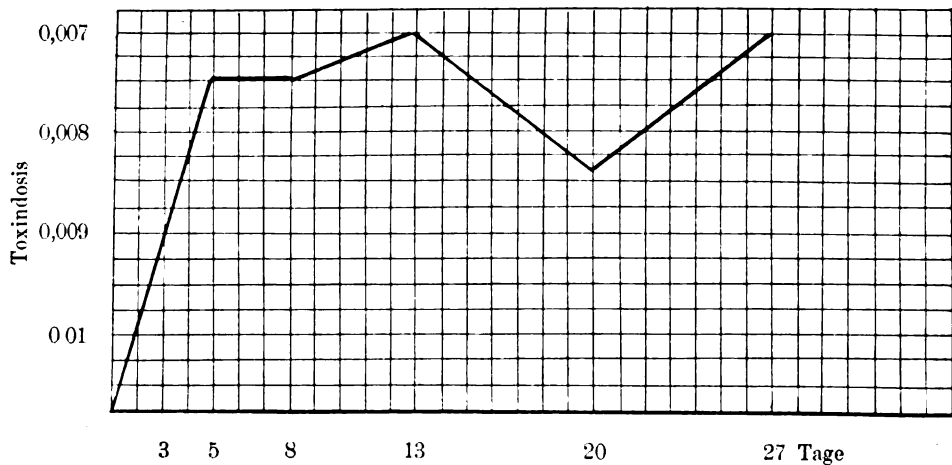


19. November 1902.

Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat	Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat	Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat
255	3.	0,01	+ 36	250	3.	0,009	+ 60				
280	5.	0,009	+ 48	265	5.	0,008	+ 84				
250	8.	0,009	+ 48	270	8.	0,008	+ 96				
275	13.	0,009	+ 45	250	13.	0,008	+ 36	255	13.	0,007	+ 80
				280	20.	0,008	+ 156	270	20.	0,007	lebt
				295	27.	0,008	+ 60	290	27.	0,007	+ 72

Bei der Serie vom 21. September nahm man die Messung alle 48 Stunden annähernd vor, während bei der vorliegenden Serie, mit Ausnahme der 1. Woche, die Messungen nach längeren Zeiträumen stattfanden. Wie man sieht, ist das Endresultat dasselbe: vom 3. Tage an

II. Kurve. 19. November 1902.



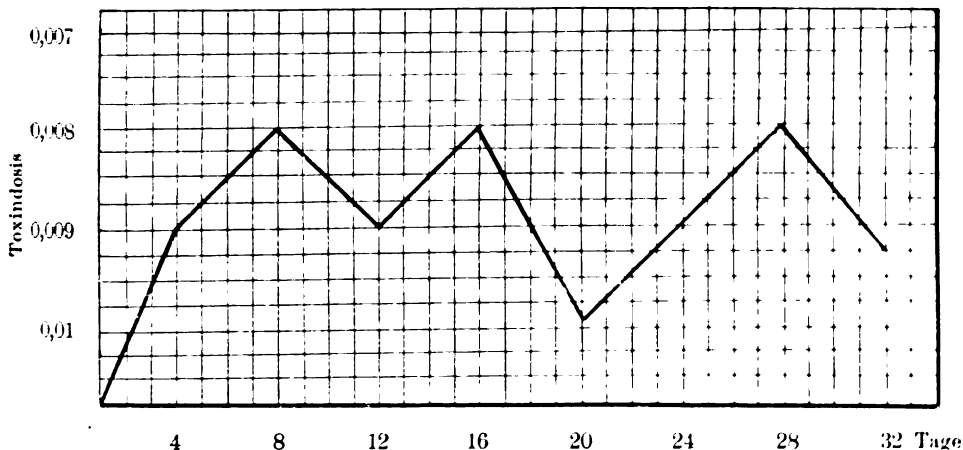
bis zum 13. gewinnt das Toxin und behält seine große Intensität, schwächt sich besonders am 20. Tage ab, bis es endlich am 27. Tage das Verlorene zurückgewinnt.

30. Januar 1903.

Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat	Gewicht	Tag der Kultur	Injizierte Dose	Resultat
295	4.	0,009 cem	+ 84	275	4.	0,008 cem	lebt
290	8.	0,009 "	+ 48	290	8.	0,008 "	+ 108
280	12.	0,009 "	+ 108	280	12.	0,008 "	lebt
265	16.	0,009 "	+ 48	250	16.	0,008 "	+ 60
265	20.	0,009 "	lebt	255	20.	0,008 "	lebt
260	24.	0,009 "	+ 84				
290	28.	0,009 "	+ 60				
250	32.	0,009 "	+ 96				

Hier ging die Messung der Toxine regelmäßig alle 4 Tage vor sich, und zwar mit ähnlichen Resultaten: Gewinnung bis zum 8. Tage, Erhaltung der Stärke bis zum 16., jedoch mit einer Abnahme am 12. Tage, ganz auffallende Depression vom 16. Tage an bis zum 24., schnelle Zunahme am 28. und endlich neuer Verlust am 32. Tage.

III. Kurve. 19. Januar 1903.



Die betreffenden Intensitätskurven dieser Serie sowie die der vorherigen, drücken in objektiver Weise den eben angegebenen Gang aus.

Aus diesen 3 Serien — sowie auch aus anderen nur teilweise vorgenommenen, welche hier nicht erwähnt werden — kann man im allgemeinen schließen, daß das Toxin seine volle Stärke vom 3. Tage an besitzt, obgleich man mit noch größerer Bestimmtheit würde behaupten können — wenn man der Resultate der Serie vom 30. Januar Rechnung trägt — daß es am Ende der 1. Woche eine maximale Intensität erlangt hat: während der 8 oder 9 folgenden Tage behält es die gewonnene Stärke, wenn es auch sowohl in dieser Periode als auch in der ersten einigen Schwankungen unterworfen ist: während der 8 folgenden Tage wird die Abnahme an Toxicität leicht bemerkbar, sodann die plötzliche und steigende Zunahme, welche die Intensität des Toxins während der

ersten Tage der ersten Periode erreicht, eine Steigerung, die sich von nun an allmählich verliert.

Wenn man nun in Betracht zieht, daß das Reaktiv für die Messung ein lebendes Wesen und als solches gewissen unberechenbaren Zufälligkeiten unterworfen ist, welche die Reaktion abändern können; wenn man ferner berücksichtigt, daß es sich um kleine Quantitäten eines äußerst starken Giftes handelt und infolgedessen mit mathematischer Genauigkeit schwer zu messen ist; wenn man endlich bedenkt, daß in der Toxinproduktion ganz winzige Ursachen einen nicht zu vermeidenden Einfluß bewirken (Schwankungen, welche einen Schleierfall zur Folge haben, leichte Temperaturunterschiede, die vom Regulator nicht zu beseitigen sind, etc.), so können wir wohl die geringen Schwankungen, welche man einen Tag über den andern in der Toxinintensität wahrnimmt, außer acht lassen und nur Unterschiede von Belang in Erwägung ziehen. Wenn wir demnach die Kurve in 8-tägigen Perioden dividieren, so werden wir die beigefügte allgemeine Kurve erhalten, welche das oben erwähnte Gesetz vorzeigt, nach welchem das Toxicitätsmaximum am Ende des 8. Tages eintritt, sich mit wenig Aenderung bis zum 16. oder 17. Tage erhält, beträchtlich und stufenweise bis zum 24. Tage abnimmt, in den folgenden 48 Stunden seine frühere Stärke wieder zurückgewinnt und dieselbe in den folgenden Tagen wieder allmählich verliert.

IV. Allgemeine Kurve (aus den einzelnen deduziert).



Wie erklärt sich nun dieser auf- und absteigende Gang? Wie vermögen wir überhaupt die merkwürdige und bei verschiedenen Serien bewiesene Tatsache zu erklären, daß, nachdem das Toxin einen großen Teil seiner Stärke um den 24. Tag verlor, es in 48 Stunden wieder zu der verlorenen Kraft gelangt, ja sogar diese übertrifft?

Was ich glaube darüber annehmen zu können, erfordert, daß ich zwei Prinzipien voraussetze, von welchen das erste, glaube ich, leicht angenommen werden wird, das zweite aber gegen viele anerkannte Ansichten verstoßen dürfte.

Die erste Voraussetzung ist die, daß wegen der Zersetzbarkeit oder Labilität des Toxins von dem Augenblick an, wo in einer Kultur der Diphtheriebacillus seine Nährtätigkeit einstellt, das Toxin nach und nach durch Verwandlung in Toxide (Ehrlich) verlieren wird. Das heißt,

während der ersten 8 Tage, besonders vom 2.—8. Tage an, entfaltet der Bacillus eine große Lebenstätigkeit; sodann mäßigt er diese, und was zwischen dem 5. und dem 8. Tage gewonnen wird, ist geringer, als das, was zwischen dem 2. und dem 3. Tage gewonnen wurde. Vom 8. Tage an bis zum 16. verliert das erzeugte Toxin, aber dieser Verlust findet einen Ersatz in den kleinen Quantitäten, welche der Bacillus noch bei seiner allmählich abnehmenden Tätigkeit erzeugt. Dagegen ist von dem 16. oder 17. Tage bis zum 24. oder 25. Tage die Einnahme sehr gering, so daß bloß der Verlust wahrgenommen wird. Das Toxin, welches mit 0,007 ccm tödlich war, tötet jetzt mit 0,009 ccm. Sogleich und schnell, in 48 Stunden, gewinnt das Toxin, welches am 24. Tage zum Minimum gelangte, am 26. Tage aufs Neue sein Giftmaximum wieder zurück. Dies ist eben die merklichste und plötzlichsste Schwankung dieser Kurve. Um eine genügende Erklärung dieser Schwankung vorzubringen, muß ich mich auf meine zweite Voraussetzung basieren.

Nach einer Angabe Kossels¹⁾ enthalten die Leiber der Diphtheriebacillen kein Toxin, oder, besser gesagt, Kossel behauptet, daß die Quantität von Toxin, welches die Leiber der Bacillen enthalten, sehr geringfügig ist, aber die Forscher haben dieser Behauptung einen absoluten Wert zugeschrieben, indem sie uns lehren, daß das Protoplasma der Bacillen kein Toxin enthalte.

Kossel sagt wörtlich: „Immerhin ist aber die Quantität des Giftes in den Leibern (der Bacillen) eine so kleine . . .“ was nach meiner Auffassung bedeuten will, daß das Toxin nur in geringfügiger Quantität vorhanden ist, aber keineswegs fehlt. Nach meinen Versuchen kann man behaupten, daß diese Quantität (die in dem Protoplasma enthaltene) nicht so klein ist, wie Kossel uns lehrte, und nicht so ganz zu verachten.

Schon früher gaben mir meine Untersuchungen über die diphtherischen Bakterioproteine Anlaß zu folgenden Experimenten: Die Niederschläge, die vom Abguß verschiedener diphtherischer Kulturen von Fernbachschen Flaschen entnommen waren, dehnte ich in dünner Schicht über verschiedene sterilisierte Kristallisatoren aus, welche mit sterilisiertem Filterpapier bedeckt wurden. In den Brutschrank bei 38° gesetzt, trocknete sie nach 48 Stunden aus, und es blieb nur eine dünne Schicht übrig in Form einer gelbrötlichen Kruste, welche am Grunde des Kristallisators angeklebt war. Nachdem diese Kruste durch wiederholtes Auskratzen mit einem starken und zugleich scharfen Instrument abgerissen worden war, pulverisierte ich sie ganz mit einem Achatmörser. Ich nahm nun 1 g dieses Staubes und brachte ihn in 100 g neutrales wasserfreies Glycerin, goß alles in eine mit einem emaillierten Pfropfe zugeschlossene Flasche, was mir erlaubte, den Flascheninhalt täglich stark zu schütteln. Nach 15 Tagen (nach meinem Protokoll vom 9. Okt. 1902) machte ich folgenden Versuch:

Meerschweinchen von 250 g.		
Einspritzung: 1 ccm 1-proz. Glycerinemulsion.		
Datum	Gewicht	Wirkungen
10. Oktober	230	großes Oedem
12. „	195	desgl.
13. „	—	†

¹⁾ Kossel, H.. Zur Kenntnis des Diphtheriegiftes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. No. 25.)

Dieselbe Dosis auch anderen Meerschweinchen injiziert, hatte zur Folge großes Oedem und zuletzt den Tod (hierüber behalte ich mir vor, später eine kleine Abhandlung zu veröffentlichen).

Dieses Experiment kann nicht als Beweis gelten, denn das erhaltene Pulver enthält nicht allein Bacillen, sondern auch etwas damit gemischtes und durch Verdunstung im Brutschrank kondensiertes Toxin, aber durch dieses Verfahren kann ich 3 Serien von Beweisen darbieten:

1) Wenn ich, ehe die Emulsion eingespritzt wird, sie durch ein Chardin-Papier filtrieren lasse, werde ich nötig haben, die Dosis hinreichend zu vermehren, damit es mir gelingt, den Tod des Meerschweinchens herbeizuführen. So injizierte ich z. B. am 14. Oktober zwei Meerschweinchen eine glycerische Emulsion zu 2 Proz. auf folgende Weise:

Meerschweinchen von 270 g. Injizierung: 0,04 ccm nicht filtrierter Emulsion.		
Datum	Gewicht	Wirkungen
15. Okt.	255	großes Oedem
17. "	235	desgl.
18. "	—	†

Meerschweinchen von 275 g. Injizierung: 0,5 ccm Glycerinemulsion, durch Chardin-Papier filtriert.		
Datum	Gewicht	Wirkungen
15. Okt.	260	mittelmäßig Oedem
17. "	260	desgl.
19. "	270	kleine Infiltration
21. "	285	Nekrose
24. "	290	1 Mark große Ulceration.

Hieraus sieht man, daß die Dosis 0,4 ccm der nicht filtrierten glycerischen Emulsion zu 2 Proz. das Meerschweinchen in 4×24 tötet, während 0,5 ccm von derselben filtrierten Emulsion nicht ausreichen, den Tod des Meerschweinchens zu bewirken; also im Filter bleiben wohl manche Teilchen, d. h. Stücke von Bacillen, welche Toxin enthalten.

2) Der Methode Kossels folgend, habe ich zahlreiche Schleier genommen, sie wiederholt in einer physiologischen Lösung von ClNa durchgewaschen und eine 1-proz. glycerische Emulsion hergestellt. Kossel behauptet, daß man bei der Extraktion mit einer normalen 1-proz. Natronlauge 5 ccm von der von ihm präparierten Emulsion braucht, um ein Meerschweinchen zu töten. In der Tat geht aus meinem hier nicht angegebenen Experimente hervor, daß das ClNa und die Natronlauge das Gift der Diphtheriebacillen nicht so gut wie das Glycerin herausziehen. Jedenfalls machte ich mit der glycerischen Emulsion, welche präpariert wurde, nachdem die Schleier reichlich gewaschen waren, am 8. August unter anderen das folgende Experiment:

Meerschweinchen von 265 g. Injizierung: 1,5 ccm gewaschene Glycerinemulsion.		
Datum	Gewicht	Resultate
9. Aug.	220	genügendes Oedem
10. "	220	
11. "	225	
12. "	220	Infiltration wie 1 Taler
13. "	230	
14. "	235	
15. "	210	Nekrose
16. "	190	
17. "	175	große Ulceration
18. "	160	
19. "	155	
20. "	—	†

Meerschweinchen von 255 g. Injizierung: 1,7 ccm gewaschene Glycerinemulsion.		
Datum	Gewicht	Resultate
9. Aug.	220	großes Oedem
10. "	—	†

Dieser Versuch beweist, daß die Waschung der Schleier die toxische Stärke des Protoplasmas der Klebs-Löfflerschen Bacillen vermindert,

aber nicht aufhebt oder vernichtet, da, im ganzen genommen, die 1-proz. Glycerinemulsion bei ungewaschenen Schleimern mit 1 ccm und bei vorheriger wiederholter Waschung mit 1,5 ccm oder wenigstens mit 1,7 ccm tötet; d. h. daß höchstens ein Unterschied von 0,7 ccm zu bemerken ist.

Ich muß ferner anführen, daß ich 1 ccm reines Glycerin zur Kontrolle einem Meerschweinchen einspritzte, welches aber keine Veränderung zeigte und dabei an Gewicht in 6 Tagen von 285—305 g zunahm. Auch will ich noch hinzufügen, daß, um jeden Anlaß zu Irrtum zu beseitigen, ich vergleichsweise ein und dasselbe Toxin teils in Glycerin, teils in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und gar keinen Unterschied wahrgenommen habe, weder für, noch gegen das Glycerin, als Auflösungsmittel betrachtet.

3) Der Ausgangspunkt dieser Arbeit war die Tatsache, daß die Pferde bei der Einspritzung der gleichen Quantität einer und derselben Bouillon mit einer größeren oder kleineren Reaktion antworten, je nachdem die Filtration vollkommen ist oder nicht. Einer unvollkommenen Filtration der Kultur entspricht eine größere Reaktion als bei den vollkommenen Filtrationen, obwohl man hier den Schluß ziehen könnte, daß die größere Reaktion der lokalen Entwicklung des Klebs-Löfflerschen Bacillus zuzuschreiben sei. Daß diese Folgerung nicht die volle Wahrheit enthält, wird aus dem hier später anzugebenden Experimente ersichtlich sein.

Da ich nun überzeugt bin, daß im Protoplasma bei Diphtheriebacillen Toxin enthalten ist, so kann ich mir die plötzliche Steigerung, die in 48 Stunden erreichte schnelle Zunahme an Toxicität (vom 24. Tage an bis zum 26.) daraus erklären, daß die Bacillen das in ihnen enthaltene Gift in der Flüssigkeit zurücklassen. Mag es durch Lexiviation sein, wie Gamaleia¹⁾ meint, mag es die Wirkung der Milchsäure sein, wie neulich Viquerat²⁾ behauptet hat, mag es einfache Maceration sein, indem das Protoplasma permeabel wird, mag es endlich durch enzymatische Autolyse sein, immer geschieht es, daß nach 24 × 24 Stunden die Klebs-Löfflerschen Bacillen eine große Dosis Toxin abgeben.

Einen neuen Beweis bin ich noch vorzubringen im stande: In der Serie vom 20. Januar 1903 sind 2 mit 0,008 resp. 0,009 injizierte Meerschweinchen, und zwar mit Toxin, welches von einer 20-tägigen Kultur hergenommen wurde. Ein Teil dieser Kultur, welche in demselben Erlenmeyer aufbewahrt wurde, ließ ich bei 37° im Brutschrank aufheben, nachdem eine Schicht Toluol beigefügt worden war. 10 Tage später, nachdem das Toluol abgetrennt und die Kultur infiltriert worden war, injizierte ich damit 0,009 ccm einem Meerschweinchen von 250 g. Nach 48 Stunden wog dieses Meerschweinchen 220 g und 12 Stunden später, d. h. nach 60 Stunden, war es schon tot, und zwar zeigte es alle typischen Läsionen. Bedenkt man, daß eine 20-tägige Kultur mit 0,009 nicht tötete, trotzdem die Bacillen lebendig waren, während 10 Tage später, als die Bacillen durch die Wirkung des Toluols abgetötet wurden, sich ein Toxin zeigte, das energisch genug war, um den Tod des Meerschweinchens herbeizuführen, so scheint aus dem Obengesagten die Behauptung berechtigt zu sein, daß das Protoplasma der Klebs-Löffler-

1) In dem Werke Gamaleias „Elemente der allgemeinen Bakteriologie“ (Berlin 1900) habe ich gar nichts gefunden, was zu der Lexiviation des Diphtheriebacillus Beziehung hätte. Ich zitiere nach Kossel.

2) Viquerat, Toxin und Isomerie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. No. 12.)

schen Bacillen Toxin enthält, und daß dieses unter gewissen Bedingungen ihrer Umgebung mitgeteilt wird.

Mag nun unsere Auffassung richtig sein oder nicht, so steht doch die Tatsache außer Zweifel, und meine Aufgabe war es, hauptsächlich diese Tatsache zur Kenntnis zu bringen. Ich meine, es würde gut sein, daß sie von anderen Forschern berichtigt oder bestätigt wird, bevor man zu weiteren Folgerungen schreitet.

Madrid, 30. März 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit.

[Aus dem kgl. bakteriologischen Institute Camara Pestana zu Lissabon.]
Mitteilung der von dem Marineminister zum Studium der Schlafkrankheit entsandten Kommission, bestehend aus Drs. **Annibal Bettencourt**, **Ayres Kopke**, **Gomes de Rezende** und **Correia Mendes**.

Mit 1 Tafel und 4 Kurven.

(Fortsetzung.)

Wie delikate diese Arbeiten sind, kann man übrigens daraus ersehen, daß bei dem Fall XXXVI. die erste am 14. März ausgeführte Punktion ein positives Resultat ergab, während sie bei der zweiten am 11. Mai negativ war. Das Gegenteil fand bei dem Kranken No. IV statt; die erste am 8. Mai entnommene Flüssigkeit hat keinerlei Kulturen geliefert; die zweite, welche 3 Tage nachher entnommen und einem Kaninchen injiziert wurde, tötete das Tier. Aus dem Blute desselben isolierte man den *Diplococcus*. Nach der ersten Punktion waren dem Kranken in den Duralsack 6 ccm 1-proz. Lysollösung injiziert worden, was, wie man sieht, keinerlei bakterienhemmende Wirkung ausgeübt hat.

Wir haben die Bakterien in den Lymphganglien der Kranken VI, X, XII, XXXIV, die bei Lebzeiten extirpiert wurden, gesucht. Der *Hypnococcus* war in reinem Zustande in den Fällen VI (Nackenganglion), X (Halsganglion) und XXXIV (Ganglion mastoideus) enthalten; in dem letzteren wurde er nur in den direkten Präparaten gefunden, die Kulturen blieben steril. In einem Nackenganglion des Kranken No. XII fanden wir gar keine Bakterien. In einem eiternden Achselganglion des Kranken No. IV endlich fanden wir Reinkulturen des weißen *Staphylococcus*. Obgleich die Anzahl dieser Untersuchungen nicht groß ist, glauben wir doch, daß die Gegenwart des *Hypnococcus* in den Ganglien keine seltene Erscheinung ist und daß die so häufige Anschwellung dieser Organe, wenigstens teilweise, der Häufigkeit der Krankheitskeime im Innern ihres Parenchyms zuzuschreiben ist.

Außer zahlreichen Blutpräparaten, die wir in verschiedener Absicht nach den gebräuchlichen Methoden gefärbt und untersucht haben, machten wir in 7 Fällen Aussaaten von Blut. Die Entnahme desselben geschah auf folgende Weise: Nachdem die Haut des Ellenbogengelenkes vermittelst einer Sublimatlösung von 1:1000 desinfiziert worden war, wurde das Blut mit einer bei 120° sterilisierten Spritze aus dem Innern einer der Venen dieser Region entnommen.

Das Blut wurde unmittelbar, ohne daß Zeit für die Koagulation von Serum war, die eine schädliche Wirkung auf die Lebensfähigkeit¹⁾ der Keime hätte ausüben können, in Glycerinbouillon, in Ascitesbouillon, Nährmedium von Kiefer und gewöhnlichen Agar gebracht. Die Menge des den Nährmitteln zugesetzten Blutes betrug manchmal 1—2 Tropfen auf 50—150 ccm Nährmittel nach dem Verfahren von Castellani²⁾, andere Male 2—3 ccm. Auf den festen Nährböden säten wir ein genügendes Quantum aus, um die ganze Oberfläche zu bedecken.

Nur 2mal (in den Fällen VI und LVI) ist es uns möglich gewesen, auf diese Weise einen Diplococcus zu isolieren, der dem in den anderen Organen gefundenen völlig analog war, aber die Entwicklung desselben war beide Male langsam, schwierig und schwächlich, so daß es uns in dem Falle LVI nicht gelang, ihn über die zweite Generation hinauszubringen.

In dem Blute der Kranken X, LX und XXXIV haben wir den Hypnococcus nicht angetroffen; bei dem letzteren haben wir es 3mal während der Fieberanfälle und während der Apyrexie am 23. und 28. Oktober 1901 versucht. Die Achseltemperatur war während der ersten beziehentlich 38,7 und 36,5; das letzte Mal, am 15. Februar 1902, bei einer Achseltemperatur von 37,8. Die Aussaaten mit dem Blut des Kranken No. III, das wegen unvermeidlicher Umstände nicht mit aller nötigen Sorgfalt entnommen werden konnte, ergaben nur Bakterien von augenscheinlich saprophytischer Natur auf allen Kulturböden.

Wir haben den Diplostreptococcus in 20 Fällen auch in gefärbten Schnitten durch das Nervensystem gesucht. Zu den Präparaten der Fälle VII, X, XI, XII, XVI, XVII, XXI, XXIV, XVIII, also in 45 Proz. der untersuchten Fälle, war das Resultat positiv.

Die Mikroben sind bisweilen in den Hirnhäuten, den Blutgefäßen (den kleinen Arterien und Venen und den Kapillaren) und in den Lymphgängen sehr reichlich vertreten. Ihre Anhäufung im Innern der Gefäße kann so weit gehen, daß richtige Thrombosen zu stande kommen.

In dem Nervengewebe zeigen sie sich zerstreut, aber in weniger großen Haufen; man sieht sie bisweilen aus Rissen der Gefäßwände hervortreten. In einigen seltenen Fällen haben wir sie im Innern von Infiltrationszellen gesehen.

Wenn die Mikroben in den Schnitten wenig zahlreich sind, so treten sie paarweise auf; wenn sie reichlich sind, so bilden sie mehr oder weniger lange Ketten, die im allgemeinen aus einer kleinen Zahl von Diplokokkenelementen bestehen; dieser Fall ist häufig. Wir müssen sagen, daß das Auffinden der Parasiten in den Schnitten oft außerordentlich schwierig ist und nur, wenn sie sehr zahlreich sind, verhältnismäßig leicht gelingt. Es wäre also nicht zu verwundern, daß er uns in verschiedenen Fällen entgangen sei.

Prof. Manson hat die Freundlichkeit gehabt, uns ein Stück von dem Gehirn einer an der Schlafkrankheit verstorbenen Person, in welchem der hervorragende Pathologe keine Mikroben gefunden hatte, mit der Bitte zu schicken, selber danach zu suchen. Nach langen und sorgfältigen Untersuchungen einer großen Anzahl von Schnitten, die mit

1) Diese Hypothese war in unserem Falle wenig wahrscheinlich, da ja die Streptokokken und Staphylokokken sich im Blutsrum gut entwickeln; man hat die Tatsache sogar zur Isolierung derselben benutzt (Petruschky, Neufeld).

2) Upon a special method for the detection of the typhoid bacillus in the blood. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXI. Origin. 1902. p. 477.)

Polychromblau und mit Tanninmethylenblau nach Unna gefärbt waren, fanden wir in einigen eine kleine Anzahl isolierter Diplokokken, die, wie gewöhnlich, von einer helleren Randschicht umgeben waren. Unglücklicherweise war das Stück mit einer Lösung von Chromsalzen gehärtet worden, wie man an seiner gelben Farbe erkennen konnte, und dieser Umstand war, da er die Färbung erschwerte, für die Untersuchung ungünstig. Trotzdem heben sich die Mikroben von dem im allgemeinen schlecht gefärbten Grund der Präparate recht deutlich ab.

Die Fig. 5 zeigt die zahlreichen Mikroben, die sich in den Hirnhäuten des Kranken No. X finden. Der Kranke No. VII, der plötzlich in einer akuten Periode von durch den spezifischen *Diplostreptococcus* verursachter Septikämie durch einen Schlaganfall gestorben war, als er noch keine Verletzungen durch Dekubitus oder andere Lösungen der Kontinuität der Tegumente zeigte, hat uns sehr schöne Beispiele von mit Mikroben angefüllten Kapillaren aus den Nervenzentren geliefert. Die Photogramme sind alle aus Schnitten des rechten Praecuneus dieses Kranken erhalten worden.

Dieselbe Tatsache wurde in anderen Fällen und in mehreren Gegenden der Neuraxe beobachtet. Die Gegenwart desselben *Diplococcus* wurde in zahlreichen gefärbten Schnitten der Ganglien der Gegend des Zungenbeins, der Kiefer, des Mastoideus und der Bronchien der Kranken VI, VII, XXII, XXIII, XXX und XXXIV vorgefunden.

Eine große Zahl haben wir in der Parotis des Kranken IX, in der Milz der Fälle X und XI und in der Glissonschen Kapsel des Falles XIV angetroffen.

Aus all dem Gesagten geht hervor, daß der Mikroorganismus, dem wir die Rolle des spezifischen Erregers der Schlafkrankheit zuschreiben, in sozusagen konstanter Weise in den Organen vorkommt, welche der Sitz der charakteristischen Läsionen der Krankheit sind, nämlich im Cerebrospinalnervensystem, seinen Häuten und den Flüssigkeiten, die sie umgeben.

Sein Vorkommen in anderen Teilen des Organismus ist nicht konstant. Es scheint, daß der Keim in gewissen Fällen unter dem Einfluß von schwer zu definierenden Bedingungen sich nach verschiedenen Regionen auszubreiten strebt. Es muß hervorgehoben werden, daß im Gegensatz zu anderen Infektionskrankheiten, wie z. B. der Beulenpest, bei denen die Bakterien in ungeheurer Menge auftreten, die Anzahl der Mikroben bei der Schlafkrankheit im Verhältnis zur Intensität der Läsionen nur unbedeutend ist. In einigen Fällen zwar sind die Mikroben im Exsudat der Hirnhäuten, in diesen selbst und sogar im Innern der Blutkapillaren des Hirns und Rückenmarks ungeheuer stark vertreten, so daß sie in den letzteren wirkliche, dichte, kompakte Thrombosen hervorbringen. Im allgemeinen indessen finden sie sich in geringer Zahl und können ziemlich oft der bloßen Beobachtung direkter Präparate entgehen, während sie in Kulturen von *larga manu* gemachten Aussaaten zum Vorschein kommen.

Wir gehen jetzt dazu über, den *Hypnococcus* in Bezug auf seine Morphologie, seine biologischen Eigenschaften, seine pathogene Wirkung etc. zu studieren.

Morphologie.

Im Exsudat der weichen Hirnhäute, in der Cerebrospinalflüssigkeit, dem Ganglien- und Milzsaft und den Gewebsschnitten ist die Grundform diejenige des *Diplococcus* mit abgerundeten oder halbrunden Elementen, die eine gewisse Tendenz haben, elliptische oder ovale Form anzunehmen. Wir haben niemals die genau winklige, langzellige Form beobachtet.

Die Diplokokken sind oft zu Ketten von 2—8, seltener mehr Paaren zusammengereiht. Diese Gruppierungen finden sich im Organismus stets weniger zahlreich als die isolierten Diplokokken. Sie sind fast immer von einem lichten Hof umgehen, der sowohl bei den isolierten Elementen als in den Ketten deutlich sichtbar ist; indessen ist dieser Hof niemals so stark accentuiert, wie die Kapsel des Fraenkelschen *Diplococcus*.

Wenn die Mikroben sehr zahlreich sind, so vereinigen sie sich zu mehr oder weniger großen Haufen, in denen man aber die Diplokokkenform gut erkennen kann. Es finden sich Diplokokken und Ketten, deren Elemente in der Größe etwas differieren; zuweilen trifft man im Organismus degenerierte Formen, die sich schlecht färben. In den großen Thrombosen, welche oft die kleinen Gefäße des Gehirns und des Rückenmarks verstopfen, erkennt man häufig Streptokokkenanordnung.

Die Hypnokokken finden sich frei im Parenchym der Organe. Sie dringen selten in das Innere des Protoplasmas der Leukocyten und Endothelialzellen der Hirnhäute. Diese Tatsache wurde nur in 4 Fällen konstatiert, in denen gleichzeitig intracelluläre Mikroben vorkamen.

In den Kulturen bietet der *Hypnococcus* denselben Anblick, mit geringen Abänderungen, jedoch, je nach dem Nährmedium. Die Diplokokkenformen überwiegen in den flüssigen, ascitischen Medien; indessen trifft man einige Ketten bisweilen von 10 oder gar 15 Paaren. In gewöhnlicher Bouillon und in Bouillon Martin sind die Ketten zahlreicher. In den festen Nährmitteln finden sich häufig schon von den ersten Generationen an kleine Ketten neben isolierten Diplokokken. In denjenigen Stellen der Präparate, die am dichtesten mit Mikroben besät waren, bildeten sie mehr oder weniger unregelmäßige Haufen. Die Ketten sind sehr häufig im Kondensationswasser des Agars, wo auch die Anzahl der sie bildenden Elemente am größten ist. Der lichte Hof bleibt in den ersten Kulturen, besonders in denen von Ascitesbouillon, sichtbar. Die Dimensionen des *Hypnococcus* sind veränderlich, so daß es schwierig ist, absolute Zahlen anzugeben. Die Mikrophotographien die wir geben und die mit einer linearen Vergrößerung von 1:1000 gemacht sind, geben eine genügende Vorstellung von der Größe des Mikroorganismus.

Zuweilen trifft man in derselben Kultur oder in demselben pathologischen Produkt Ketten, die aus Elementen von normaler Größe und andere, die aus kleineren Diplokokken zusammengesetzt sind.

Der *Hypnococcus* ist immer unbeweglich. Er färbt sich gut mit allen basischen Anilinfarben. Das Loefflersche Methylenblau und das Karbolthionin von Nicolle geben ziemlich klare Präparate. Die vitale Färbung mit der Methode von Nakanishi¹⁾ klärt die Struktur der meisten Kokken auf. Neben denen, welche die blaue Farbe gleichmäßig annehmen, sieht man viele mit einem kleinen mittleren, stärker gefärbten Teil (Kern), der sich von der helleren peripherischen Zone scharf abhebt.

1) Centrabl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 97.

Der lichte Hof, von dem wir gesprochen haben, läßt sich auf diese Weise leicht sichtbar machen.

Die Verfahren von Gram und Gram-Nicolle liefern veränderliche Resultate bei den Präparaten, die mit den direkt dem Organismus entnommenen Produkten angelegt waren. Bald färben sich die Mikroben, bald entfärben sie sich; häufig nehmen sie eine leichte, schlecht verteilte Färbung an; in derselben Kette und manchmal in demselben Diplococcus findet man ziemlich häufig die einzelnen Elemente mit verschiedener Intensität gefärbt. Dasselbe geschieht bisweilen mit den ersten Generationen der Kulturen, aber nach 2 oder 3 Generationen erhält man mit jenen Methoden gleichmäßigere Resultate, und wir können also feststellen, daß unser Diplococcus sich nach dem Verfahren von Gram gut färbt, besonders wenn man die Modifikation von Claudius anwendet.

Kulturen.

Der frisch aus dem Organismus entnommene *Hypnococcus* läßt sich schlecht in den meisten üblichen Nährmitteln kultivieren, selbst in denen, die seiner Entwicklung am günstigsten sind, bemerkt man niemals reichliche und fruchtbare Kulturen. Die direkten Aussaaten pathologischer Produkte entwickeln sich stets schwieriger als spätere Passagen, wenn der Mikrobe sich nach und nach an den neuen Nährboden, den man ihm bietet, gewöhnt hat. Gerade diese Tatsache erschwert seine Aufsuchung und Isolierung.

Nach einigen Versuchen fanden wir, daß die günstigsten Nährmedien diejenigen sind, welche Ascitesflüssigkeit enthalten, wie das Kiefersche, die Ascitesbouillon und die Martin-Ascitesbouillon. Weniger günstig sind die Martinschen Nährböden. Wir haben die anderen noch schlechter gefunden, auch wenn wir ihnen Glycerin zusetzten.

Ascitesbouillon. In diesem mit gewöhnlicher oder Martinscher Bouillon bereiteten Nährmittel bemerkt man, daß sich nach 18—24 Stunden bei 35—37° eine leichte und gleichmäßige Trübung entwickelt, die nach und nach zunimmt. Nach 4—6 Tagen bildet sich ein Bodensatz von Bakterien und die Flüssigkeit wird bedeutend heller und nimmt fast ihr ursprüngliches Aussehen an.

Bouillon. Dieselben Erscheinungen zeigen sich in Martinscher Bouillon und in peptonisierter Fleischbrühe mit oder ohne Glycerinzusatz. Allein die Entwicklung ist schwieriger, die Kultur weniger reichlich; bisweilen bilden sich kleine Flocken, die zu Boden fallen, während die Flüssigkeit klar wird. Beim Umschütteln steigen die Flocken auf und zerteilen sich so, daß eine gleichmäßige Trübung entsteht.

Agar und Ascitesagar. Auf Ascitesagar, dem Kieferschen Nährmedium, dem Martinschen Agar, dem einfachen gewöhnlichen oder glycerinisierten Agar ist der Anblick der Kulturen der gleiche. Es bilden sich kleine, runde, grauweiße, glänzende, feuchte und durchscheinende Kolonien, die nicht viel aus der Oberfläche heraustreten und gewöhnlich voneinander getrennt sind. Auf den beiden ersten Mitteln fließen sie häufig zusammen und bilden auf der Oberfläche eine zusammenhängende feine Schicht, die ebenso aussieht wie die isolierten Kolonien.

In den auf Agarplatten gewachsenen Kolonien zeigen sich dieselben bei schwacher Vergrößerung als aus 2 Zonen bestehend, einer dunkleren, zentralen und einer viel helleren peripherischen, die kreisrund ist und scharfe Ränder hat. (Fig. 3.) In dem zentralen Teil bemerkt man bis-

weilen einen mehr oder weniger runden, sehr kleinen Fleck, der dunkler ist als der übrige Teil. Die anfangs punktförmigen Kolonien vergrößern sich während 2—3 Tagen; die Entwicklung bleibt dann stehen, obgleich die Kolonien erst 0,2—0,4 und in den günstigsten Mitteln etwa 1 mm erreicht haben.

Serum. Die Entwicklung ist identisch mit der auf Agar; sie ist reichlicher in Loefflerschem als in gewöhnlichem Serum.

Gelatine. In den Stichkulturen entwickelt er sich längs des Stichkanals in nach der Tiefe zu gewöhnlich isolierten, nach oben zu dichter gedrängt stehenden Kolonien. Auf der Oberfläche ist die Entwicklung unbedeutend und zeigt keinerlei Streben, sich auszubreiten. Die Gelatine wird niemals verflüssigt.

Kartoffeln. Auf Kartoffeln erhält man Kulturen, die mit dem bloßen Auge unsichtbar oder kaum durch eine gewisse Feuchtigkeit der Oberfläche bemerklich sind. Auf diesem Nährboden beobachtet man am häufigsten Involutionen, in denen man bisweilen nur sehr schwierig das normale morphologische Aussehen des *Hypnococcus* erkennen kann.

Milch. Das Bakterium entwickelt sich darin ohne irgend welche sichtbare Veränderung hervorzubringen. Die Milch koaguliert nicht, auch wenn sie lange bei 37° gehalten wird.

Zuckerhaltige Nährmedien. Der *Hypnococcus* zersetzt weder Laktose noch Glukose, noch bringt er in den von Hanna zum Nachweis der Säurebildung angegebenen Nährmedien irgendwelche Veränderung hervor. Für die Bereitung dieser Medien haben wir die von Hiss zur Unterscheidung des *Pneumococcus* von den Streptokokken angegebenen Formeln benutzt. Wir haben Aussaaten in Ochsenblutserum gemacht, das mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, alkalisiert und mit 1 Proz. Inulin versetzt worden war; die Entwicklung fand ohne irgendwelche Aenderung der Reaktion und ohne Koagulation statt, auch wenn die Kulturen einen Monat lang bei 37° gehalten wurden.

Lackmusmolke (Petruschky). In dem Mittel entwickelt sich der *Hypnococcus*, ohne irgendwelche Aenderung in der Farbe der Flüssigkeit hervorzubringen.

Nährmittel mit Neutralrot (Rothberger-Scheffler). In der Stichkultur, wie sie Scheffler empfiehlt, entwickelt sich der *Hypnococcus* den ganzen Impfstich entlang, ohne irgendwelche Aenderung in der Farbe des Nährmittels zu verursachen.

Der *Hypnococcus* bildet kein Indol in Lösungen von Witteschem Pepton. Er ist fakultativer Anaërober; wir haben ihn in Bouillon im Vakuum und in Wasserstoffatmosphäre züchten können.

Die günstigste Temperatur für die Entwicklung des *Hypnococcus* ist 35—37°; zwischen 18—22°¹⁾ ist sie zögernd und unbedeutend. Auch die Alkalität des Mittels hat einen nennenswerten Einfluß auf die Entwicklung der Kulturen. Eine ausgesprochen alkalische Reaktion ist günstig, eine, auch nur leichte, saure Reaktion ist schädlich.

Um mit den direkt dem Körper entnommenen Produkten Kulturen zu erhalten, empfiehlt es sich, ascitische Flüssigkeiten und Temperaturen von 35—37° anzuwenden, unter anderen Bedingungen können die Aussaaten erfolglos bleiben. Aber es genügen einige Passagen durch die

1) Diese Tatsache steht in scheinbarem Widerspruch mit den Angaben unseres ersten Berichts. Sie kann indessen dadurch erklärt werden, daß wir in Loanda mit frisch aus dem Organismus isolierten Keimen gearbeitet haben, die an niedrige Temperaturen noch nicht gewöhnt waren.

erstgenannten Nährmittel, um dem *Hypnococcus* die Fähigkeit zu verleihen, in einfachem und mit Glycerin versetztem Agar, in Peptonbouillon, Milch u. s. w. sich zu entwickeln.

Was wir soeben gesagt haben, bezieht sich auf die mit Witteschem Pepton bereiteten Nährmittel, in denen, wie am Anfange dieser Arbeit ausgeführt wurde, die Entwicklung bedeutend schwächer ist als in den Peptonen anderer Herkunft. Es ist wahrscheinlich, daß diese Tatsache der Grund der Schwierigkeit gewesen ist, in den gewöhnlichen Nährmedien Kulturen zu erhalten. Wenn man sich der Peptone von Merck oder Chapoteau bedient, so ändert sich das Bild; die Entwicklung des *Hypnococcus* in denselben geht bei weitem besser vor sich, sei es daß man direkte Krankheitsstoffe von Versuchstieren aussät, sei es daß es sich um spätere Generationen handelt. Was die von Kranken entnommenen Stoffe anbetrifft, so können wir darüber nichts angeben, weil wir zu der Zeit als wir die genannten Beobachtungen machten, keine genügende Anzahl von Exemplaren mehr hatten, um sichere Schlüsse ziehen zu können.

Tierversuche.

Der *Hypnococcus* ist besonders pathogen für Kaninchen, Affen und weiße Mäuse.

Kaninchen. Die direkte Einimpfung von Cerebrospinalflüssigkeit und von Hirnhautexsudat in Dosen von 0,5—2 ccm verursachte bisweilen den Tod in 3—4 Tagen, zumal wenn sie in die Pleurahöhle gemacht wird. In vielen Fällen hat sie kein Resultat gegeben, was durch die geringe Anzahl Keime, die der Organismus oft enthält, leicht zu erklären ist.

Die subkutanen Einspritzungen von frisch isolierten Bakterien sind fast immer tödlich, wenn man $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$ einer Agarkultur oder 0,1—0,4 einer 20—24 Stunden alten, bei optimaler Temperatur gehaltenen Bouillonkultur anwendet. Durch aufeinanderfolgende Passagen von einem Kaninchen auf das andere erzielt man leicht eine Steigerung der Virulenz, sei es daß man direkt das Blut des toten Tieres, sei es daß man Kulturen in Ascitesbouillon anwendet. Zum Beispiel tötete der *Hypnococcus* der aus der Cerebrospinalflüssigkeit des Kranken LVIII (durch lumbale Punktion entnommen) isoliert worden war, in 24 Stunden ein 1030 g schweres Kaninchen nach Einimpfung von 0,01 ccm Ascitesbouillonkultur nach 6 Passagen. Nach 26 Passagen schwankte die tödliche Dosis zwischen 0,0001 und 0,00005; nach 73 Passagen betrug sie 0,00001 und nach 100 Passagen genügten bisweilen 0,000005—0,000001. Wenn man diese außerordentliche Verdünnung erreicht hat, so sind die Resultate begreiflicherweise nicht ganz sicher, denn zweifellos muß die Anzahl der Bakterien von einem Versuch zum anderen variieren und man muß auch mit der individuellen Widerstandsfähigkeit des Kaninchens rechnen, die Petruschky in seiner Experimentalkritik der Arbeiten von Marmorek hervorhebt. Wir haben in einigen Fällen Unterschiede in dieser Widerstandsfähigkeit festgestellt, die sich fast immer in mehr oder weniger langem Ueberleben der geimpften Tiere ausdrückte. Während der Steigerung der Virulenz des *Hypnococcus* bestimmten wir von Zeit zu Zeit die tödliche Minimaldosis. Die Resultate einer unserer Versuchsreihen, bei welcher stets ein *Hypnococcus* derselben Herkunft (Fall LVIII) in 20—24 Stunden alten Kulturen in Ascitesbouillon, die durch direkte Aussaat des Blutes der getöteten Tiere er-

halten wurden, dient, finden sich in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle.

Kaninchen	Gewicht	Passage	Quantum der unter die Haut geimpften Kulturen	Resultat	Kaninchen	Gewicht	Passage	Quantum der unter die Haut geimpften Kulturen	Resultat
1	1850	6	0,2	+ nach 2 Tg.	22	1520	49	0,0001	+ nach 3 Tg.
2	1970	6	0,1	+ „ 5 „	23	1500	49	0,00005	+ „ 3 „
3	1030	6	0,01	+ „ 1 „	24	1400	49	0,00001	+ „ 3 „
4	2050	16	0,01	+ „ 3 „	25	1420	53	0,00001	+ „ 3 „
5	2500	16	0,01	+ „ 2 „	26	1400	53	0,000005	lebend
6	2500	16	0,01	+ „ 2 „	27	1500	126	0,0001	+ nach 3 Tg.
7	3000	16	0,01	+ „ 2 „	28	1500	126	0,00005	+ „ 4 „
8	1180	21	0,1	+ „ 2 „	29	1450	126	0,00001	+ „ 4 „
9	1060	21	0,05	+ „ 2 „	30	1550	126	0,00001	+ „ 2 „
10	1065	21	0,01	+ „ 3 „	31	1450	126	0,000005	+ „ 5 „
11	1700	22	0,05	+ „ 3 „	32	1400	126	0,000001	+ „ 2 „
12	1520	22	0,01	+ „ 2 „	33	1550	129	0,00001	+ „ 1 „
13	1340	25	0,005	+ „ 2 „	34	1500	130	0,0001	+ „ 4 „
14	1390	25	0,001	+ „ 2 „	35	1500	130	0,00001	+ „ 5 „
15	1340	25	0,0001	+ „ 2 „	36	1500	130	0,000005	+ „ 3 „
16	1300	26	0,0001	lebend	37	1500	130	0,000005	+ „ 5 „
17	1300	26	0,00005	+ nach 3 Tg.	38	1450	130	0,000001	+ „ 6 „
18	1370	29	0,0001	+ „ 1 „	39	1450	130	0,000001	+ „ 4 „
19	1300	29	0,0001	+ „ 4 „	40	1580	155	0,0001	+ „ 2 „
20	1670	35	0,0001	+ „ 2 „	41	1580	155	0,00001	+ „ 4 „
21	1410	35	0,00005	+ „ 7 „	42	1470	155	0,000001	lebend

Wie man sieht, haben nur 3 Kaninchen der Infektion widerstanden, No. 26 und 41 mit sehr kleinen Dosen 0,000005 und 0,000001 und No. 16 mit 0,0001, d. h. bei Dosen von 0,000005 bleiben die Tiere nur ausnahmsweise am Leben. Von den gleich schweren Kaninchen No. 16 und 17 ist dasjenige, welches mit 0,00005 geimpft war, gestorben, während dasjenige das genau die doppelte Dosis bekommen hat am Leben geblieben ist. Kaninchen No. 31, daß zu gleicher Zeit wie 32, aber mit einer 5mal so großen Dosis geimpft worden war, hat 3 Tage länger gelebt. Manchmal sterben die zu gleicher Zeit mit denselben Dosen geimpften Tiere mit Intervallen von einigen Tagen; No. 18 z. B. ist nach Verlauf eines Tages gestorben, No. 19 hat 4 Tage gelebt, etc.

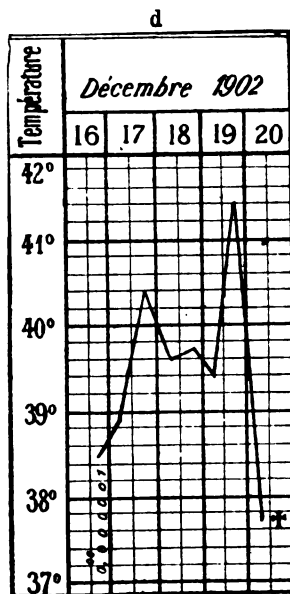
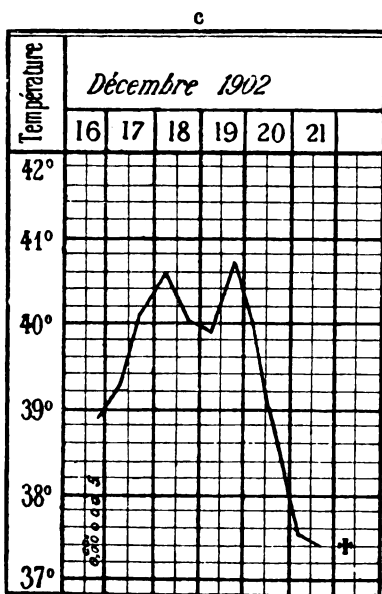
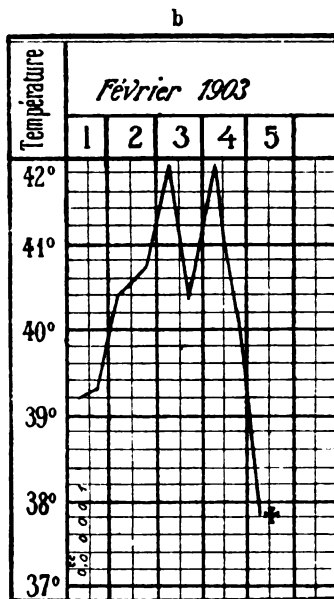
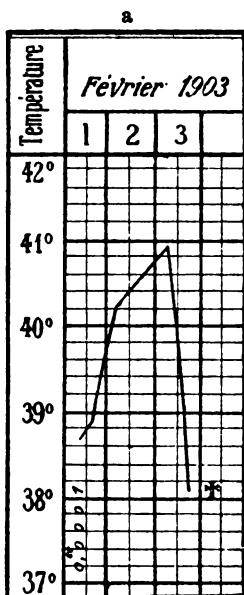
In den meisten Fällen tritt der Tod innerhalb 3 Tagen nach der Infektion ein. Die Tiere, welche innerhalb 24 Stunden oder erst nach mehr als 5 Tagen sterben, sind selten.

Nach der Impfung pflegt die Temperatur zu steigen und erreicht häufig 41° und mehr. Manchmal sterben die Kaninchen während dieses hyperthermischen Zustandes, aber faßt immer folgt demselben, besonders wenn man kleine Dosen anwendet, ein plötzlicher Abfall der Temperatur, so daß diese 1–2° unter die normale sinkt und die Kaninchen mit Hypothermie zu Grunde gehen. Die folgenden Versuche bei Tieren, bei denen man den Gang der Temperatur bis zum Tode oder kurz vorher verfolgen konnte, beweisen das angeführte.

Kaninchen von 1580 g Gewicht. Subkutane Injektion von 0,0001 einer 24 Stunden alten Kultur in Ascitesbouillon. Vor der Operation war die Temperatur 38,7° (Fig. a).

Kaninchen von 1580 g Gewicht. Wurde mit 0,0001 derselben Kultur

wie bei dem vorhergehenden Versuch geimpft. Die Temperatur vor der Impfung betrug $38,2^{\circ}$ (Fig. b).



Kaninchen von 1500 g Gewicht. Erhielt unter die Haut 0,000005 einer 24 Stunden alten Kultur in Ascitesbouillon. Temperatur vor der Injektion $38,0^{\circ}$ (Fig. c).

Kaninchen von 1450 g Gewicht. Subkutane Einspritzung von 0,000001 derselben Kultur, die bei dem vorhergehenden Versuche zur Anwendung kam. Vor der Impfung betrug die Temperatur $38,5^{\circ}$ (Fig. d).

Bei der Sektion dieser Kaninchen haben wir immer eine der Intensität nach etwas variable Hypertrophie der Milz angetroffen. Das Vorkommen einer exsudativen Pericarditis ist häufig. In einigen Fällen befindet sich das Blut des Herzens in Hämolyse. Wenn die Einimpfung intraplenal war, findet man bisweilen in der Pleurahöhle ein fibrinöses eitriges Exsudat. Zahlreiche Diplokokken und Ketten finden sich im Exsudat des Pericardiums und der Pleura, im Blut und besonders im Milzsaft, was beweist, daß der Tod der Tiere infolge einer rasch verlaufenden Septikämie eintritt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Morphologische und biologische Beobachtungen über einen Fall von Wutkrankheit beim Menschen, mit besonderer Rücksicht auf die Gegenwart und Vertellung der Negrischen Körperchen im Zentralnervensystem.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität. Turin.]

Von **E. Bertarelli**, Privatdozent, und **G. Volpino**, Assistent.

Die wichtige Mitteilung Negris¹⁾ an die Società medica von Pavia bezüglich des Vorhandenseins besonderer Körper im Inneren der Nervenzellen der an experimenteller und spontaner Wutkrankheit verendeten Tiere — Körper, die Negri für Parasiten hält — sowie die seiner Mitteilung auf dem Fuße folgenden, weniger vollständigen Berichte Guarnieris²⁾ und Volpinos³⁾ über analoge und wahrscheinlich denen Negris identische Körper (was zum mindesten für die von Volpino beobachteten gilt) haben die allgemeine Aufmerksamkeit auf diese vermuteten Parasiten gelenkt, deren Befund ein sehr hohes praktisches und wissenschaftliches Interesse hat und haben kann. Zur Bestätigung dieser Vermutung ist erst ganz kürzlich eine Arbeit Daddis⁴⁾ erschienen, die für die praktische und wissenschaftliche Bedeutung des von Negri beschriebenen Befundes spricht.

Deshalb halten wir es für nützlich, einige unserer morphologischen Untersuchungen mitzuteilen, die auf die Verteilung der Negrischen Körperchen in der Cerebrospinalachse bei der menschlichen Wutkrankheit gerichtet sind, denen wir dann noch einige experimentelle Beobachtungen beifügen über einen strittigen Punkt der Pathologie der Wut. Wenn gleich es sich nun auch nur um einen einzigen Fall handelt, so scheint uns dennoch dessen Publikation nicht überflüssig, da sie Auskunft erteilt über die erste systematische und komplette, am Menschen angestellte Beobachtung der Negrischen Körperchen.

Das Individuum, welches uns das Prüfungsmaterial lieferte, ist Boggione, G., ein Knabe von 12 Jahren aus Monforte Alba, der am 31. März a. c. in die Nase gebissen wurde und am 22. Mai dieses Jahres gestorben ist. Die ersten Wutsymptome traten gegen den 18. Mai auf. Die Autopsie fand 18 Stunden nach dem Tode statt, worauf nach freund-

1) Negri, Boll. d. soc. med. chir. di Pavia. 1903. Marzo.

2) Guarnieri, La Clinica moderna. 1903. Aprile.

3) Volpino, Giorn. d. r. accad. di med. di Torino. 1903. Aprile.

4) Daddi, Riv. critica di clin. med. 1903. Maggio.

licher Einwilligung des Prof. Foà aus der ganzen Cerebrospinalachse und aus verschiedenen Drüsen Stücke entnommen wurden.

Die zur Beobachtung bestimmten Stücke setzten wir in gesättigtes Sublimat und Zenker; die Schnitte wurden nach der Mannschen Methode gefärbt, die sich hierzu vorzüglich eignet.

Nachstehend geben wir summarisch die erhaltenen Befunde, besonders bezüglich der Gegenwart und Verteilung der Negrischen Körperchen.

Gehirn. Die Negrischen Körperchen finden sich in geringer Anzahl in den Pyramidenzellen der Gehirnwindungen, zahlreich dagegen in den Pyramidenzellen des Ammonshorns, in allen anderen Gegenden (Basiskerne, callöser Körper etc.) fehlen sie.

Besonders leicht ersichtlich und unterscheidbar bieten sie sich im Ammonshorn, wo die meisten der Pyramidenzellen einen oder mehrere Parasiten verschiedener Größe enthalten (von 2—6, 8 μ ungefähr). Die Formen mittlerer Größe sind jedoch vorherrschend. Besonders die etwas größeren Formen lassen die von Negri gut beschriebene Struktur klar zu Tage treten.

Die meisten dieser vermuteten Parasiten sind paranukleär, andere finden sich mitten im Protoplasma oder in den Zellverlängerungen. Es war uns nicht möglich, sie außerhalb der Zellen anzutreffen. Außerdem nimmt man, abgesehen von der Größe, an keiner Stelle eine Konstitutionsverschiedenheit der Negrischen Körperchen wahr.

Ueberdies erinnern wir hier noch an eine interessante Alteration der Pyramidenzellen, nämlich eine granuläre Formation im Zellprotoplasma, die aus nach Mannscher Methode rot färbbaren Körnchen besteht.

Kleinhirn, verlängertes Mark, Rückenmark. Die an zahlreichen Schnitten vorgenommene Prüfung ließ uns das Vorhandensein der Negrischen Körperchen nur in den Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns konstatieren. Auch nicht einen der typischen Körperchen konnten wir im verlängerten und in allen Schnitten des Rückenmarkes (aus Gehirn, Rücken und Lendengegend) vorfinden.

Wahrscheinlich fehlen sie also im ganzen Marke vollständig oder sie finden sich darin nur in äußerst geringer Anzahl.

Spinalganglien und Ganglien des Sympathicus. In den Spinalganglien fehlen die Negrischen Körperchen absolut vollständig, ebenso in denen des Sympathicus. Dagegen sind die Van Gehuchten'schen Läsionen (endotheliale Proliferation, Zerstörung der Nervenlemente) in den Ganglien stark hervortretend, und überdies bemerkt man in vielen ihrer Zellen eine bedeutende Anhäufung schwarzhlichen Pigments.

„Im ganzen also lieferte hinsichtlich der Negrischen Körperchen einen positiven Befund: das Ammonshorn, wo sie sich zahlreich vanden; die Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns mit einer mäßigen Anzahl und die Gehirnwindungen mit sehr geringen Quantitäten, während sie in allen anderen Gegenden und auch da (Spinalganglien), wo das Nervenlement sehr schwere Verletzungen aufwies, fehlten.“

Diese Tatsache läßt nun außer den bereits erwähnten Betrachtungen Negris und Daddis auch folgern, daß die parasitäre Natur der Negrischen Körperchen angezweifelt werden kann, solange es nicht gelingt, für das Wutvirus eine toxische Wirkung zu erklären (was uns

bis heute noch nicht erwiesen scheint), die auch entfernt von dem Sitze des eventuellen Parasiten auftreten könnte.

In einem kurzen Beitrage ist es uns jedoch nicht gestattet, in derartige Diskussionen einzutreten, weshalb wir uns dies für später vorbehalten.

Infektionsvermögen des Speichels und der Speicheldrüsen. Im allgemeinen ist man der Meinung, daß Speichel und Speicheldrüsen des wutkranken Menschen nicht virulent sind. Diese Ansicht hat jedoch zum mindesten auch ihre Gegner. Unter ihnen z. B. behauptet Bardach¹⁾, die Wutkrankheit mit den Speicheldrüsen vieler wutkranker Menschen aufs Kaninchen übertragen zu haben, während Bordoni²⁾, der unter besseren Umständen operierte, es in Abrede stellt, daß in den sofort nach dem Tode herausgenommenen Speicheldrüsen das Wutvirus vorhanden ist. Dieser Autor erklärt dann die positiven Resultate Bardachs mit einer postmortalen Diffusion des Virus in den Drüsen.

Wir haben am Kaninchen den einen Tag vor dem Tode des infizierten Knaben entnommenen Speichel ausprobiert und dann in gleicher Weise mit den Unterzungdrüsen, Unterkieferdrüsen und Ohrspeicheldrüsen experimentiert, die sämtlich während der Autopsie angesammelt und sofort in sterile, physiologische Lösung verbracht worden waren, letzteres um jedes verunreinigende Material von der Außenfläche fernzuhalten.

Im ganzen haben wir 20 Kaninchen unter die Dura mater und in den Ischiadicus inokuliert. Einige Tiere verendeten am 2., 5. und 7. Tage. Weitere Verimpfungen in Kaninchen schlossen das Vorhandensein von Wutkrankheit vollständig aus; die meisten der inokulierten Tiere ertrugen den Eingriff gut. Es haben sich also wenigstens in unserem Falle sowohl der in vita und während des vollsten Wutausbruchs entnommene Speichel, wie auch alle Speicheldrüsen zweifelsohne als frei von Wutvirus erwiesen. Es liegt nun auf der Hand, daß man diese Tatsache erst dann verallgemeinern kann, wenn man in einer beträchtlichen Anzahl von Fällen ein identisches Ergebnis erhalten haben wird.

Schließlich fügen wir noch hinzu, daß die Nebennierenkapseln und der Pankreas dagegen das Virus enthielten und die Wutkrankheit auf das Kaninchen übertrugen.

Infektionsvermögen der Narbe. Pace³⁾ hat kürzlich gefunden, daß die Wutnarbe, wenngleich sie augenscheinlich vollständig geheilt ist, doch das Virus enthalten kann. Prof. Abba hat mit dem Materiale des in Rede stehenden Falles die Proben Paces nachgeprüft, dabei aber ein absolut negatives Resultat erhalten.

1) Bardach, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888.

2) Bordoni, Rabbia canina. 1889.

3) Pace, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903.

Nachdruck verboten.

Der Bakteriengehalt des Zitzenkanals (Ductus papillaris) bei der Kuh, der Ziege und dem Schafe.

Von Dr. med. vet. **Otto Uhlmann**, prakt. Tierarzt in Lengefeld i. Erzgeb.

Mit 1 Tafel.

Allgemein huldigte man bis vor kurzem der Annahme, das Sekret der Milchdrüse wäre bakterienfrei, wenn eine aufsteigende Invasion durch den Strichkanal nicht zu einer fortwährenden Besiedelung des Sekretes und der Drüse selbst mit Bakterien Anlaß gäbe. Daß die abgesonderte Milch so gut wie nie keimfrei ist, haben die verschiedensten Forscher festgestellt.

Veranlassung dazu hatten besonders die Bakteriologen, welche, wie von Freudenreich (6), zu ihren Arbeiten einer frischen, sterilen Milch bedurften und keine Mühe scheuten, um, wenn möglich, eine solche zu gewinnen. Die natürliche Sterilität der Milch ist heute nach den Arbeiten von Barthels (2), Ward (15), von Freudenreich (7), Burri (4), Boekhout und Ott de Vries (3). Backhaus (1), sodann in neuester Zeit Lux (12) nun endgültig als ein in Wirklichkeit nicht vorhandener Zustand zu betrachten.

Mit der Feststellung dieser Tatsache ist aber die Frage nach der Pforte der Invasion noch nicht erledigt. Es ist selbstverständlich, daß hier zwei Möglichkeiten bestehen: Die Mikroorganismen gelangen in die Drüse und die bereits gebildete Milch entweder durch die Blutbahn oder durch den Strichkanal oder durch beide.

Aufgabe der Forschung ist es, die Bedeutung dieser Möglichkeiten zu untersuchen.

Ich stellte mir die Aufgabe, die Besiedelungsverhältnisse des Strichkanals mit Bakterien genau festzustellen, denn die Invasionstheorie durch den Ductus papillaris ist die bis jetzt bevorzugte gewesen. Bereits ist dieselbe durch mehrere Voraussetzungen unserem Kausalitätsbedürfnisse annehmbarer gestaltet worden. Kitt (10) vergleicht den genannten Kanal mit einer Kapillarröhre, die von der Oberfläche bis in die Cisterne reicht. In derselben kommt eine Milchsäule vor, die als eine bequeme Heeresstraße für die Bakterien von der beschmutzten Oberfläche in den Milchvorrat der Cisterne führt. Amerikanische Forscher und Burri (4) denken sich, daß die Schloffheit des Schließmuskels der Zitze, eventuell die kongenitale Weite des Kanals ebenso eine kontinuierliche Milchsäule gestatten.

Die Reichhaltigkeit der Stallluft und des Stallbodens an Bakterien, die gelegentlich bei der Futter- und Streuerteilung aufwirbelnden Staubwolken sind ebenso sehr begünstigende Momente für die Einleitung und Unterhaltung der Zitzeninvasion. Natürlich muß die Einwanderung der Keime stets unterhalten sein, denn ein einmaliges Vorrücken der Mikroorganismen genügt nicht oder kaum, um die Infektion des Milchdrüseninhaltes als Dauerzustand zu gewährleisten.

Den soeben geschilderten Verhältnissen widersprach einzig Simon-Erlangen (13): Er fand bei seinen Untersuchungen, daß unmittelbar hinter dem Verschlusse der Zitzenöffnung die sterile Region begann, daß mithin das Sekret die Milchdrüse frei von Keimen verlasse.

In der mir zugänglichen Literatur fand ich über die oben erwähnten

Voraussetzungen in Bezug auf die beregten Verhältnisse des Strichkanals jedoch selten auf Tatsachen beruhende Angaben. Als wirkliche Fakta gehören hierher Versuche von Frank (5). Dieser erzeugte Mastitiden durch Injektion von faulender Fleischflüssigkeit und Mastitis-eiter in den Milchbehälter. Kitt (11) ergänzte diese Untersuchungen noch des ferneren. Es ergab sich aus seinen Versuchen, daß nicht alle Mikroorganismen, in die Cisterne injiziert, notwendigerweise eine Euterentzündung bewirken. Neben einigen anderen war es stets die galaktogene Verimpfung einer bestimmten Bakteriensorte, speziell einer solchen, die in Reinkulturen aus Eutern von an spontaner Mastitis erkrankten Kühen gezüchtet war, welche Milchdrüsenerkrankungen bedingte. Um den natürlichen Infektionsmodus möglichst nachzuahmen, rieb oder strich Kitt Mastitiskeime den Zitzenöffnungen von 5 Kühen an und vermochte zumeist schon Tags darauf eine Erkrankung des Euters sowie eine Veränderung des Sekrets zu demonstrieren.

Weitere Experimente legten die Professoren Herren Guillebeau und Hess (8, 9) an. Verschiedentlich waren sie im stande, Milchfehler und Mastitiden durch in die Milchbehälter injizierte Bakterienkulturen zu erzeugen. Darauf prüften sie, ob Veränderungen der Drüse und der Milch durch bloße Berührung der Zitzenmündung mit bakterieller Flüssigkeit bewirkt werden könnten. 5 Kühen wurden 5 verschiedene, frische Kulturen eines virulenten *Streptococcus mastitidis* appliziert. Bei einer Kuh wurden die Zitzenmündungen 10 Minuten lang in der Kultur gebadet; 2 Tieren wurde sie an die Kanalausmündung angepinselt und 2 weiteren mit sterilisiertem Wattepfropfen gut eingerieben und überdies angepinselt. Während Injektionen der gleichen Kultur in die Cisterne Mastitis bewirkt hatten, waren bei vorerwähnten Versuchen die Resultate durchgängig negativ.

Zum Schlusse ergaben Untersuchungen, die während der Anfertigung dieser Arbeit im veterinär-pathologischen Institute der hiesigen Universität durch Tierarzt Dr. Steiger (14) angestellt wurden, daß weder Streptokokken noch *Coli-Bacillen*, an die Euterzitzen unten angerieben, eine Entzündung der Milchdrüse zu erzeugen im stande sind.

Die Feststellung des normalen Inhaltes im Ductus papillaris mittels der gebräuchlichen anatomischen Untersuchungsmethoden ist noch nicht durchgeführt worden. Um diese Lücke auszufüllen, legte ich eine Anzahl ganz frischer Zitzen von Eutern, besonders milchender Kühe, in Alkohol von steigender Konzentration, um sie zu härten. Das Gleiche geschah mit dem Striche eines 1-jährigen, noch keine Milch erzeugenden Rindes, sowie mit je 2 Zitzen von Ziege und Schaf. Ein Präparat vom letztgenannten Tiere stammte von einem nicht in der Laktationsperiode stehenden Individuum. Nach der Einbettung in Paraffin wurden die Blöcke in 13 μ dicke Schnitte zerlegt, letztere mit Eiweiß auf Objektträger aufgeklebt und mit Thionin zumeist gefärbt. Vermöge dieser Methode konnten die Verhältnisse im Strichkanale sehr übersichtlich gestaltet werden. Alle Schichten des Epithels traten mit der wünschenswerten Deutlichkeit hervor. Besondere Aufmerksamkeit wurde selbstverständlich dem Stratum corneum und dem meist sehr reichlich vertretenen Stratum mortificatum gewidmet. Was die im mikroskopischen Bilde auftretende Formung des Kanales anlangt, so ist dieselbe von unten nach oben zuerst kreisrund; diese Form ist aber unzweifelhaft ein Kunstprodukt, bedingt durch die Alkoholschrumpfung. Weiter oben ist die natürliche Gestaltung des Ausführungsganges, der einen schmalen,

mit 1—2, höchstens 3 seitlichen Ausbuchtungen versehenen Spalt darstellt, besser erhalten, wenn auch durch die im Alkohol stattgehabte Schrumpfung immer noch etwas erweitert. Die Zitze geht oben in die reichlich gefaltete, mit hohem einschichtigen Cylinderepithel versehene Rosette über. Das untere Drittel des Ductus ist durch die Querschnitte von Marksäulchen und Zotten ausgezeichnet. Die Zahl der von mir untersuchten Striche beträgt 35, die Zahl der Schnitte etwas über 800. Die erhobenen Befunde sind so gleichmäßig, daß es genügt, hier einige Beispiele anzuführen (s. Tafel).

Kuh I.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 3095 μ . Im Lumen mehrere Milchreste, darin vereinzelt Stäbchen und Kokken; zwei besonders hervortretende Stäbchen in Teilung begriffen.
- 3143 μ . In kleinen Milchresten, untermischt mit Epithelteilchen mehrere Stäbchen von verschiedener Gestalt; wenig Kokken.
- 3206 μ . Rechts im Bilde, in kleinen Milchresten, einige wenige Stäbchen; einige weitere sowie wenig Kokken beim Absuchen der Kaseinreste längs des Epithelrandes.
- 3291 μ . In dem auf einer Epithelscholle aufsitzenden Milchteilchen sind einige Stäbchen schwach sichtbar; in einem weiteren, winzigen Käsereste noch einige dergleichen, wenig Kokken vorhanden.
- 3366 μ . Abseits vom oberen Rande einige Milchpartikelchen; in dem einen findet sich ein Stäbchen; wenig Kokken.
- 3444 μ . Lumen wird fast ausgefüllt von Epithelschuppen; unten am Epithelrande geringe Käseteilchen, hin und wieder einige Stäbchen und Kokken enthaltend.
- 3491 μ . Stratum mortificatum gut entwickelt; winzige Milchteilchen im Lumen mit wenig Stäbchen und Kokken.
- 3580 μ . Am Stratum-Rande zwei winzige Milchreste; nur einige wenige Stäbchen und Kokken zu finden bei Absuchen des Epithelrandes.
- 3601 μ . Am oberen Rande in den beiden Kaseinteilchen sowie in solchen des Lumens einige Stäbchen; letztere auch hier und da frei im Zentrum auftretend; wenig Kokken.
- 3640 μ . Ganz schwach durchscheinende Milchreste im Lumen; in ihnen und in Epithelschollen überall Stäbchen nicht selten; Kokken sehr gering an Zahl.
- 3790 μ . In der Mitte des oberen Epithelrandes zwei etwas deutlichere Kaseinteilchen, darin zwei große und mehrere kleine Stäbchen; wenig Kokken, besonders unten am Stratum corneum zwei Diplokokken.
- 3920 μ . In Lumenmitte eine ganz schwache Milchwolke, darin zwei deutlich geschrumpfte Stäbchen; am unteren Epithelrande zwei große Kokkenkolonien.
- 4050 μ . In einem winzigen Kaseinreste mehrere Stäbchen; längs des Epithelrandes große Kokkenkolonien.
- 4180 μ . In dem Milchteilchen am Epitheldefekte zahlreiche Stäbchen; längs des Stratum corneum-Randes einige nicht zu beträchtliche Kokkenhaufen.
- 4320 μ . Oben rechts sowie überhaupt entlang dem Epithelrande kleinste Käsepartikelchen, hier und da Stäbchen enthaltend; zahlreiche große Kokkenkolonien in den Rissen und Klüften des Stratum mortificatum, welches das Lumen fast ausfüllt.
- 4460 μ . Mächtige Kokkenkolonien in Epithelschollen des Lumens eingelagert; in verschwindend kleinen, bläulichen Milchadern finden sich wenig Stäbchen und vereinzelt größere Kokken in geringer Anzahl.
- 4691 μ . Rechts unten im und am Stratum mortificatum, welches gut entwickelt ist, winzige Milchteilchen mit wenig Stäbchen als Inhalt; links eine Kokkenkolonie.
- 4717 μ . Nur bei Oelimmersion werden links kleinste Milchreste sichtbar, darin sehr wenig Stäbchen; innerhalb des stark abgeschuppten Epithels eine Kokkenkolonie.
- 4730 μ . Am oberen Epithelrande Kokkenhaufen, am anderen winzige Kaseinteile, in diesen und in Epithelschollen wenig Stäbchen.
- 5142 μ . Am Epitheldefekte ein Käserest, ein weiterer auf Epithelmassen aufgelagert, beide enthalten zahlreiche Stäbchen, wenig Kokken.
- 5167 μ . Auf dem linken Epithelrande ein Käserest, in diesem und in zahlreichen Epithelschuppen des Lumens mehrere verschieden geformte Stäbchen, wenig Kokken.
- 5446 μ . Der untere Rand trägt kleinste Milchteilchen, darin und am Stratum corneum überhaupt wenig Stäbchen und Kokken verstreut sichtbar.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 5472 μ . Zwischen die Klüfte des Epithels sind mehrere Stäbchen gelagert, links unten zwei kleine Kaseinteile; Kokken in verschwindender Zahl auftretend.
- 5872 μ . Links unten ein winziger Käserest, in dessen Nähe auf dem Stratum corneum zahlreiche Stäbchen von verschiedener Gestalt; wenig Kokken.
- 6122 μ . Links größere Kokkenkolonien; am Epithelrande zwei bläuliche Milchreste, weitere frei oder den zahlreichen Epithelien aufgelagert, nicht selten Stäbchen enthaltend; wenig vereinzelte Kokken.
- 6556 μ . Am Stratum mortificatum winzige Milchpartikel, zumeist Stäbchen enthaltend; in den Rissen des Epithels Kokken in kleinen Haufen.
- 6860 μ . Im Lumen zwei schwach sichtbare Kaseinreste, wenig Stäbchen und spärlich Kokken darin und in Epithelschuppen.
- 7008 μ . Am Epitheldefekt zwei ganz geringe Käseteilchen mit zahlreichen Stäbchen als Inhalt, wenig Kokken.
- 7042 μ . Milchteilchen auf Epithelschollen aufgeschwemmt, darin reichliche Stäbchen, eine förmliche Kolonie am linken Epithelrande; sehr wenig Kokken.
- 7175 μ . In einem der spärlichen Milchteilchen rechts im Winkel zahlreiche Stäbchen von verschiedener Form, das Gleiche auf dem Stratum mortificatum; wenig Kokken.
7314. Im Lumen ein Käserest, nur bei Oelimmersion sichtbar; Stäbchen zahlreich in den Klüften des Epithels, wenig Kokken.
- 7505 μ . Oben rechts ein geringer Käserest, darin drei größere Stäbchen; wenig Kokken im reichlich vorhandenen Stratum mortificatum.
- 7531 μ . Rechts unten eine größere Kokkenkolonie; oben am Epitheldefekt zwei Milchteile mit wenig Stäbchen.
- 7919 μ . Lumen angefüllt mit Epithelschuppen; in ihnen große Kokkenhaufen; ganz geringer Kaseinrest am Epithelrande, in seinen Einrissen mehrfach Stäbchen.
- 8038 μ . Unten links Milchreste auf das Stratum mortificatum geschwemmt, daselbst vielfach Stäbchen; in Lumenmitte und etwas oberhalb homogene Milchgerinnsel.
- 8137 μ . Rechts unten ein schwacher Käserückstand, darin wenig Stäbchen; zahlreiche Kokkenhaufen in den Zerklüftungen der Epithelmassen.
- 8247 μ . Links von großer Epithelscholle, welche einige Stäbchen enthält, ein spärlicher Milchniederschlag; ein weiterer links am Rande mit mehreren Stäbchen; hin und wieder treten Kokken in Häufchen auf.
- 8260 μ . Rechts unten eine große, bläuliche Epithelscholle; links davon drei schleierartige Kaseingerinnsel mit wenigen Stäbchen; Kokken bilden zahlreiche Kolonien.
8412. In einem Käserestchen des Lumens zahlreiche verschiedene Stäbchen; keine Kokkenkolonien, sondern nur wenig Einzelexemplare.
- 8509 μ . Im Lumen ein kleines Milchüberbleibsel mit wenig Stäbchen; von letzteren noch einige zu finden in Einrissen von größeren Epithelschuppen; zahlreiche größere Kokkenhaufen.
- 8585 μ . Kokkenansammlungen am unteren Epithelrande; in winzigen Milchrückständen geringe Zahl von Stäbchen.
- 8624 μ . Oben links ein Käseteilchen auf dem Stratum mortificatum befindlich, daselbst einige Stäbchen; in den zahlreich abgeschuppten Epithelien hauptsächlich am unteren Rande kleine Kokkenhaufen.
- 8757 μ . In den beiden Milchresten am Epitheldefekte vielfach Stäbchen; am Epithelrande eine Kokkenkolonie.
- 8874 μ . Rechts oben zwei kleine Milchniederschläge, nur ganz schwach sichtbar; Kokkenhaufen massig; nur wenig Stäbchen in dem sehr gut entwickelten Stratum mortificatum; in linker Ausbuchtung zwei geschrumpfte Stäbchen liegend.
- 8966 μ . Links unten ein spärliches Käseteilchen, daneben einige Stäbchen; zahlreiche Kokkenkolonien in die Risse der großen Epithelschollen eingelagert.
- 9168 μ . Im Milchüberbleibsel des Lumens einige Stäbchen; Kokken massig in den Epithelien vorhanden.
- 9365 μ . Unten rechts und oben links je ein winziger Kaseinrest. In zahlreichen Epithelschuppen des Lumens recht wenig Stäbchen und große Kokkenhaufen.
- 9495 μ . Oben am Epitheldefekte ein durchscheinender Milchrest mit wenig Stäbchen; zahlreiche Kokken in Haufen.
- 9774 μ . Vor der Ausbuchtung eine ganz schwache Milchwolke mit wenig Stäbchen; im Winkel rechts massenhafte Kokkenkolonien.
- 9817 μ . Auf dem reichlich vorhandenen Stratum mortificatum hier und da spärliche Kaseingerinnsel aufgelagert; in den Klüften des Epithels einige Stäbchen, zahlreiche Kokkenansammlungen.
- 9958 μ . Unten und oben schwache Kaseinteile; am Epithelrande wenig Stäbchen; Kokken massenhaft in den Epithelien vorhanden.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 10 184 μ . Links oben gegen den Epitheldefekt befindet sich ein Milchteilchen, welches Stäbchen verschiedener Form enthält; rechts oben am Epithelrande eine schwach sichtbare Milchwolke, daneben mehrfach Stäbchen; Kokkenhaufen zahlreich zugegen.
- 10 323 μ . Unten am Stratum corneum-Rande zwei spärliche Käseüberbleibsel; in einem davon sowie mehrfach in den Epithelschollen Kokkenkolonien; Stäbchen nur ganz wenig in den Klüften des Epithelrandes.
- 10 349 μ . Oben Epithelschuppen mit faserartigen Kaseinniederschlägen besetzt, nur wenig Stäbchen enthaltend; zahlreiche Kokken in Haufen.
- 10 513 μ . Rechts oben ein schleierartiger Randmilchrest, in dessen Verlaufe wenig Stäbchen; Kokken in Massen zugegen, frei und in Epithelrisse eingelagert.
- 11 147 μ . Oben rechts am Epithelrande ein ganz minimaler Käserückstand, daran ein Stäbchen; von letzteren noch einige wenige in Zerklüftungen des Stratum corneum, teilweise von verschiedenen Formen; Kokken an Menge zurücktretend, nicht mehr so zahlreich.

Kuh II.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 0 - 50 μ . Nur äußere Decke, kein Kanal sichtbar; zahlreiche deutliche Stäbchen in verschiedenen Milchrückständen vorhanden, teilweise sogar kleine Kolonien anwesend; nicht zu häufig Kokken von wechselnder Größe.
- 100 μ . Zahlreiche kleine Käseteilchen am Epithelrande mit mehreren Stäbchen; wenig Kokken zugegen.
- 250 μ . In quer durch das Lumen gehendem, fadenartigem Milchniederschlage Stäbchen, teilweise von verschiedener Form; sehr wenig Kokken.
- 400 μ . Links oben und rechts unten je ein spärliches Milchüberbleibsel, darin reichlich Stäbchen; wenig, zumeist kleine Kokken.
- 600 μ . In die zahlreicher auftretenden Epithelschuppen hier und da Kaseinflöckchen eingelagert; letztere vielfach Stäbchen enthaltend, wenig Kokken.
- 750 μ . Oben und unten am Epithelrande zwei winzige Milchgerinnsel liegend mit mehreren Stäbchen als Inhalt; Kokken gering an Zahl wie an Größe.
- 900 μ . Am Stratum corneum unten zwei bläuliche Milchrestchen, darin einige Stäbchen; wenig Kokken.
- 1000 μ . Stratum mortificatum gut entwickelt; zwei Käseteilchen im Lumen enthalten wenig Stäbchen; wenig Kokken werden im Bilde sichtbar.
- 1150 μ . Unter die Epithelschollen im Lumen ein Milchrest gelagert, der einige Stäbchen enthält, zum Teil von verschiedener Form; Kokken in größeren Exemplaren auftretend.
- 1300 μ . Rechts unten neben Epithelien in durchscheinender Milchwolke ein Häufchen Stäbchen; wenig Kokken.
- 1500 μ . Der Kanal, welcher ausgefüllt ist von Epithelmassen, enthält in seinem Zentrum ein winziges Milchteilchen mit Stäbchen von verschiedener Größe, bisweilen geschrumpft; wenig Kokken.
- 1650 μ . Links vom Zentrum ein Kaseinrest mit wenig Stäbchen; sehr wenig Kokken.
- 1800 μ . Am unteren Stratum corneum-Rande in einem dort befindlichen Milchteilchen fünf Stäbchen, anscheinend im Schrumpfstadium; wenig Kokken.
- 1900 μ . Im Zentrum kleiner Käsefleck in die reichlichen Epithelien eingelagert mit wenig Stäbchen; wenig Kokken.
- 2000 μ . Im Lumen zwei kleine Milchgerinnsel, in einem davon wenig Stäbchen, während das andere eine förmliche Kolonie enthält; wenig Kokken.
- 2100 μ . Stratum mortificatum gut entwickelt; im Lumen ein etwas deutlicher Kaseinniederschlag mit mehreren Stäbchen als Inhalt; wenig Kokken.
- 2200 μ . Epithelschuppen reichlich auftretend mit größeren Kokkenhaufen; im Lumen ein verschwindend kleines Käserestchen mit zwei Stäbchen.
- 2300 μ . Geringes Milchteilchen im Zentrum; zwischen den Epithelien links oben liegt eine kleine Diplokokken- und Stäbchenansammlung.
- 2400 μ . Schwaches, bläuliches Käseüberbleibsel enthält vielfach Stäbchen; von letzteren eine kleine Kolonie in Epithelklüften vorhanden; wenig Kokken.
- 2500 μ . Epithelschuppen zahlreich im Lumen; rechts unten im schwach sichtbaren Milchschleier wenig Stäbchen; Kokken sehr selten.
- 2500 μ . Links oben zwischen Epithelien ein kleines Käseflöckchen mit wenig Stäbchen; Kokken wenig und sehr klein.
- 2900 μ . Links unten am breiten Epithelrande ein schwach sichtbares Milchgerinnsel mit mehreren Stäbchen; wenig kleine Kokken.
- 3100 μ . Rechts unten in der Ausbuchtung äußerst zarte Milchteilchen, teilweise auf dem reichlich vorhandenen Stratum mortificatum liegend, darin vielfach Stäbchen; im allgemeinen wenig Kokken vorhanden.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 3200 μ . Hier und da auf das Stratum mortificatum Käserestchen aufgeschwemmt mit einigen Stäbchen als Inhalt; wenig Kokken.
- 3400 μ . Das Lumen enthält neben reichlichen, zerfallenen Epithelien im Zentrum ein netzartiges Milchgebilde, in welchem wenig Stäbchen nachweisbar sind; wenig Kokken.
- 3500 μ . Lumen wird fast vollständig angefüllt mit Epithelschuppen; in einer der letzteren eine kleine Stäbchenkolonie; wenig kleine Kokken.
- 3700 μ . Am oberen Epithelrande ein Milchrest mit wenig Stäbchen; spärliche Zahl von Kokken vorhanden.
- 4100 μ . Zwischen die Epithelschollen links oben und links unten schwach sichtbare Käseflöckchen eingelagert mit wenig Stäbchen; wenig Kokken.
- 4300 μ . In mehreren Epithelschuppen sowie in der am linken Stratum corneum-Rande schwach sichtbaren Milchwolke einige Stäbchen zu finden; die kleinen Kokken nehmen an Zahl etwas zu.
- 4500 μ . Unter den Epithelien im Zentrum kleinste Kaseinteilchen gemischt, darin wenig Stäbchen und Kokken.
- 4600 μ . Auf und an den Epithelrand hier und da winzige Käserückstände geschwemmt; diese enthalten wenig Stäbchen, bisweilen in Teilung begriffen; wenig Kokken.
- 4800 μ . Am linken Stratum corneum-Rande ein Milchrest, der nur bei Oelimmersion schwach sichtbar wird, darin wenig Stäbchen; wenig Kokken zwischen die Epithelien verstreut.
- 4900 μ . Unter die Epithelmassen des Lumens zwei ganz schwach sichtbare Milchteilchen gelagert; diese enthalten einige Stäbchen von verschiedener Größe; wenig kleine Kokken.
- 5000 μ . Rechts und links am Epithelrande winzige Milchgerinnsel mit wenig Stäbchen; letztere etwas zahlreicher in den Epithelien des Zentrums; wenig Kokken.
- 5150 μ . Im Zentrum und am Epithelrande hin und wieder spärliche Käseüberbleibsel mit wenig Stäbchen und wenig Kokken.
- 5300 μ . Zwischen den Epithelschollen des Lumens und dem Stratum corneum ein schwacher Randmilchrest hervortretend, wenig Stäbchen und Kokken darin.
- 5450 μ . Kleinste Milchteilchen am Epithelrande; Stäbchen und Kokken ganz wenig.
- 5600 μ . Auf Epithelmassen des Lumens ein zartes, netzartiges Kaseingebilde aufsitzend mit einigen Stäbchen als Inhalt; Kokken in mäßiger Zahl.
- 5750 μ . Im Lumen findet sich zwischen den Epithelien ein schwach sichtbarer Milchniederschlag, darin wenig, aber verschieden geformte Stäbchen; wenig Kokken.
- 5900 μ . Links oben finden sich in Einrissen des Stratum mortificatum wenig Stäbchen; Kokken in geringer Anzahl anwesend.
- 6000 μ . Links unten winzige Milchgerinnsel mit wenig Stäbchen; einzelne der letzteren im gut entwickelten Stratum mortificatum liegend; wenig kleine Kokken.
- 6250 μ . Im Lumen auf Stratum mortificatum Milchrestchen aufgelagert, darin mehrere Kolonien von verschieden großen Stäbchen; Kokken in mäßiger Zahl vorhanden.
- 6400 μ . Rechts oben in Ausbuchtung zwei winzige Käsereste mit wenig Stäbchen; letztere in großer Zahl in Klüften des linken Epithelrandes; Kokken nicht häufig.
- 6650 μ . Rechts unten und oben am Stratum corneum-Rande etwas deutlichere Milchrückstände; darin finden sich mehrere Stäbchen von verschiedener Größe; Kokken in mäßiger Menge nachweisbar.

Kuh III.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 0—50 μ . Nur äußere Decke sichtbar, kein eigentlicher Kanal. Vielfach Milchteile vorhanden mit Stäbchen und Kokken als Inhalt.
- 150 μ . Stratum mortificatum in mäßigem Grade vorhanden; in dasselbe eingelagert wenig Kokken und Stäbchen; von letzteren noch einige in schwach sichtbarem Milchschleier links.
- 641 μ . Stratum mortificatum füllt das Lumen fast aus; am Stratum corneum-Rande ein schwer sichtbarer Milchrückstand, der wenig Stäbchen und Kokken enthält.
- 704 μ . Links und rechts von den Epithelschuppen des Lumens liegen in dort befindlichen Kaseingerinnseln verschieden geformte Stäbchen, bisweilen in Teilung; Kokken in mäßiger Zahl.
- 767 μ . Auf dem Stratum mortificatum hin und wieder faserartige Kaseingebilde aufsitzend, darin wenig Stäbchen und Kokken.
- 830 μ . Am linken Stratum corneum-Rande die Epithelscholle etwas bläulich verfärbt; in ihrer Nähe ein nur schwach sichtbarer Käseniederschlag, der zahlreiche, verschieden geformte Stäbchen in sich birgt; Kokken nicht häufig.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 893 μ . Epithelschollen füllen den Kanal vollständig aus; wie schon mehrfach zu bemerken, fehlen auch hier jegliche Milchreste; inmitten des Stratum mortificatum, speziell in Klüften desselben, zahlreiche Kokkenkolonien eingelagert; links unten und rechts in Einrissen des Stratum corneum selten Stäbchen, wovon einige deutlich geschrumpft.
- 956 μ . Links oben und rechts unweit des Epithelrandes in zwei winzigen Milchteilchen sowie in Epithelschuppen des Lumens einige wenige Stäbchen; Kokken zahlreich in großen Haufen auftretend, so daß bei schwacher Vergrößerung ihre Kolonien als bläulich gefärbte Flecke schon auffallen.
- 1032 μ . Rechts oben das reichlich vorhandene Stratum mortificatum, besetzt mit ganz feinen Milchteilen; daselbst sehr wenig Stäbchen, jedoch reichhaltige Kokkenhaufen; rechts und links in Ausbuchtungen lagern zwei winzige Käseflöckchen, welche einige große Stäbchen aufgenommen haben.
- 1121 μ . Am linken Epithelrande ein Milchüberbleibsel mit wenig Stäbchen; Kokken außerordentlich zahlreich.
- 1184 μ . Im Lumen hauptsächlich Epithelschollen, darin nur bei Oelimmersion sichtbare, winzig kleine Käsereste; wenig Stäbchen, teilweise geschrumpft, massenhaft Kokken.
- 1247 μ . Kanal ausgefüllt mit abgeschuppten Epithelien fast ohne Lückenbildung; am Stratum corneum Rande einige wenige Stäbchen; Kokken in größeren Haufen zugegen.
- 1310 μ . Unter den Epithelien des Lumens hier und da Milchrückstände, welche mehrfach verschiedenen große Stäbchen bergen; Kokken in mäßiger Zahl.
- 1386 μ . Im Zentrum drei kleine, etwas deutlichere Kaseingerinnsel; wenig Stäbchen in Klüften des Epithelrandes; Kokken nur in mäßiger Zahl vorhanden.
- 1449 μ . Rechts unten am Epithelrande ein kleiner Käserest, der einige Stäbchen enthält; wenig Kokken.
- 1512 μ . In nur ganz schwach sichtbaren Milchüberbleibseln des Lumens sehr wenig Stäbchen eingelagert; Kokken selten.
- 1575 μ . Kanal total angefüllt mit dem Stratum mortificatum, in dessen Zerklüftungen bisweilen, aber selten, Stäbchen und Kokken verborgen sind.
- 1638 μ . Am linken Epithelrande zwei spärliche Milchteilchen, darin Stäbchen und Kokken in wenig Exemplaren.
- 1751 μ . Am rechten Stratum corneum-Rande mehrere winzige Kaseinniederschläge; sie enthalten bisweilen Stäbchen und Kokken.
- 1864 μ . Der gleiche Befund.
- 2003 μ . Neben den zahlreichen Epithelschollen im Lumen einige Milchrestchen; in diesen wenig Stäbchen und Kokken
- 2142 μ . Das Stratum mortificatum reichlich vorhanden; links unten zarte Milchteilchen mit sehr wenig Stäbchen; Kokken in geringer Anzahl.
- 2255 μ . Epithelrand rechts trägt neben abgeschuppten Epithelien einige undeutliche Käserückstände; darin einige Stäbchen; Kokken nehmen an Zahl zu.
- 2368 μ . In die Epithelmassen des Kanals winzige Milchgerinnsel eingelagert mit einigen Stäbchen und Kokken.
- 2481 μ . Am unteren Epithelrande zwei winzig kleine Käseteilchen, die einige Stäbchen und Kokken in sich bergen.
- 2594 μ . Längs des oberen Epithelrandes ein zarter Milchsleier; im reichlich vorhandenen Stratum mortificatum wenig Stäbchen und Kokken.
- 2707 μ . Zwischen Epithelschollen des Lumens ganz schwache Milchreste liegend; in einem ein geschrumpftes Stäbchen nachweisbar; Kokken in mäßiger Anzahl.
- 2846 μ . Rechts oben auf dem Stratum corneum ganz schwache Kaseinniederschläge mit wenig Stäbchen; plötzlich treten wieder zahlreiche Kokkenkolonien am unteren Epithelrande auf.
- 3009 μ . In die Epithelien des Lumens hier und da wenig Stäbchen eingelagert; Kokken in geringer Zahl zugegen, die massenhaften Ansammlungen fehlen.
- 3135 μ . Im Stratum mortificatum, auf welchem ein ganz schwach sichtbares, faserartiges Milchgebilde liegt, zahlreiche Kokkenhaufen sichtbar; wenig Stäbchen, zum Teil geschrumpft, wahrzunehmen.
- 3148 μ . In Klüften des Stratum corneum wenig Stäbchen und Kokken vorhanden.
- 3387 μ . Neben den großen Epithelschuppen im Lumen winzige Käsereste mit sehr wenig Stäbchen und Kokken.
- 3576 μ . Zahlreiche Epithelien füllen den Kanal fast ganz aus; am unteren Stratum corneum-Rande ein nur schwach sichtbares Milchteilchen und wenig Stäbchen; Kokken in geringer Zahl zwischen den abgeschuppten Epithelien.
- 3765 μ . Die Epithelschollen im Lumen besitzen einen zarten Kaseinniederschlag als Auflagerung, darin einige Kokkenkolonien; wenig Stäbchen sichtbar.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

- 3928 μ . Am unteren Epithelrande zwei winzige Milchüberbleibsel; in Zerklüftungen des Stratum corneum sind wenig Stäbchen und Kokken wahrzunehmen.
- 4091 μ . Zwischen Epithelschuppen und linkem Epithelrande ganz schwache Käserückstände mit wenig Stäbchen; Kokken in geringer Anzahl nachweisbar.
- 4280 μ . In der oberen Ausbuchtung auf den Epithelien undeutliche, faserige Milchgebilde aufgelagert; darin und am Epithelrande allgemein wenig Stäbchen und Kokken
- 4443 μ . Unter den Epithelschollen des Lumens einige spärliche Käseteilchen mit wenig Stäbchen und Kokken als Inhalt.
- 4606 μ . Im Zentrum neben Epithelien winzige Milchreste; in Klüften des Stratum corneum einige wenige Stäbchen und Kokken.
- 4769 μ . Das Lumen weist nur Epithelmassen auf; am Epithelrande Stäbchen und Kokken nicht zu häufig vorhanden.
- 4982 μ . Links oben neben großen Epithelschuppen ein Milchrestchen, darin wenig Stäbchen; Kokken gering an Zahl.
- 5208 μ . Rechts unten am Epithelrande zwei geringe Käseteilchen; im Stratum corneum hier und da Stäbchen und Kokken.
- 5421 μ . Stratum mortificatum gut entwickelt; links oberhalb vom Zentrum spärliche Milchrückstände; in ihnen und am Epithelrande wenig Stäbchen; Kokken in mäßiger Menge zugegen.
- 5722 μ . Das Lumen fast angefüllt mit Stratum mortificatum; in den Epithelmassen zahlreiche Kokkenkolonien; Stäbchen und vereinzelte Kokken finden sich des weiteren in Einrissen des Epithelrandes.
- 6160 μ . Links oben in dem Winkel, welchen eine sich vom Epithelrande abspaltende Schuppe bildet, liegt ein winziges Milchteilchen; in ihm und überall am Stratum corneum sind Stäbchen von verschiedener Größe wahrzunehmen; wenig Kokken treten zu Tage.

Es ergibt sich aus diesen Befunden, daß der Strichkanal des normalen Euters unter allen Verhältnissen eine verschwindend kleine Menge von Milch enthält, nämlich in einer Schnittebene kaum so viel, wie das Volumen eines roten Blutkörperchens beträgt. Hin und wieder war in den einzelnen Schnitten auch nicht die kleinste Spur von Sekretresten wahrzunehmen. Die Milchteilchen waren zudem noch auf 2 bis 3 Stellen verteilt, nur ausnahmsweise kamen Milchspuren vor, deren Ausdehnung derjenigen mehrerer roter Blutkörperchen entsprach.

Serienschnitte beweisen, daß diese Sekretpartikelchen nicht zusammenhängen, daß somit von einer Milchsäule im Ductus papillaris nicht gesprochen werden kann. Vor der äußeren Mündung des Ausführungsganges sah ich hier und da eine etwas größere, 30 μ lange und 2 μ breite Milchkruste. Ueber der Rosette, in der Cisterne lagen bisweilen etwa 10—15 μ breite Kaseingerinnsel. Das Lumen des Kanals enthielt stets abgelöste Epithelschuppen in ansehnlichen Mengen; dieselben füllten nicht selten den Ductus vollständig aus. In allen von mir untersuchten Querschnitten kamen Bakterien vor. Meistens war ihre Zahl klein, gelegentlich lagen im Bilde 100 und mehr Keime. Niemals kamen so viel Mikroorganismen zu Gesicht, daß man von einem das Lumen ausfüllenden Bakterienpfropfen hätte sprechen können. In einigen Zitzen war das Stratum corneum zerklüftet, und in den Spalten des letzteren lagen von der freien Mündung an bis zur Rosette hin förmliche Rasen von Keimen. Hervorgehoben zu werden verdient noch, daß in manchen bakterienreichen Präparaten plötzlich einige Schnitte recht wenig Keime aufwiesen, um dann wieder von keimreicheren Schnitten gefolgt zu werden. Keine Stelle des Kanals erwies sich als besonders bevorzugte Fundstelle für diese Lebewesen. Der Form nach gehörten die Mikroorganismen zu den Kokken und den Stäbchen; bald überwog die eine, bald die andere Form. Es mag jedoch hier erwähnt sein, daß die Stäbchen nie in solch beträchtlichen Mengen sichtbar wurden, wie dies bei

den Kokken in einigen Zitzen der Fall war. Im Stratum mortificatum waren zumeist die Kokken in der Ueberzahl, während von den Stäbchen die Milchreste bevorzugt wurden.

IV. Zitze eines 1-jährigen Rindes, dessen Milchdrüse noch nicht tätig gewesen war.

Der Zitzenkanal war 3,5 mm lang und die Querschnitte zeigen alle sehr übereinstimmende Verhältnisse. Aus dem Protokolle teile ich folgende Auszüge mit:

Untere Oeffnung des Strichkanals:

Stratum mortificatum schwächer entwickelt. In Flüssigkeitsresten des Lumens finden sich wenig Stäbchen; in bläulich verfärbter Epithelschuppe findet sich ein Stäbchen in Teilung begriffen. Größere und kleinere Kokken nicht selten, bisweilen kleine Haufen davon sichtbar.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

500 μ . Im Centrum ziemlich viel zähes Sekret, untermischt mit Leukocyten, umgeben von Stratum mortificatum. Wenig Stäbchen vorhanden; Kokken einzeln und in kleinen Haufen.

Den gleichen Befund erhob ich bis zu einer Entfernung von 3500 μ , von der unteren Oeffnung an gerechnet, wo dann die Cisterne mit der Rosette ihren Anfang nahm. Die Untersuchungsergebnisse von 3,5 mm bis zur Höhe von 12 mm blieben sich wiederum so ähnlich, daß ich mich auf einen Protokollauszug beschränken kann.

Entfernung von der äußeren Zitzenmündung:

8500 μ . Das Lumen ist relativ weit; es ist angefüllt mit ziemlich viel Stratum mortificatum, in welchem wenig Stäbchen- und Kokkenhäufchen vorhanden sind. Die rudimentären „Milchdrüsenalveolen“ sind gut ausgebildet.

Die Cisterne ist somit sehr bakterienarm, die Zahl der Leukocyten eine mäßige.

Das Sekret, von dem bei diesem Präparate gesprochen wird, ist die zähklebrige Flüssigkeit, die man bei Jungrindern aus der Zitze bekommen kann. Der Strichkanal enthält, wie bemerkt, überall einige Kokken und Stäbchen, auch ist das Auftreten von Leukocyten in demselben bemerkenswert. Das dort liegende Sekret reizt wie ein Fremdkörper und lockt die Wanderzellen an.

V. Zitze einer Ziege.

Der Zitzenkanal war sehr kurz. Die Befunde der einzelnen Schnitte waren auch hier dermaßen ähnlich, daß es genügt, zwei derselben anzuführen:

Strichkanal: Im Lumen ziemlich viel abgeschuppte Epithelien; zwischen den einzelnen Schollen sowie am Rande des Stratum cornu sehr selten Stäbchen, Kokken etwas zahlreicher.

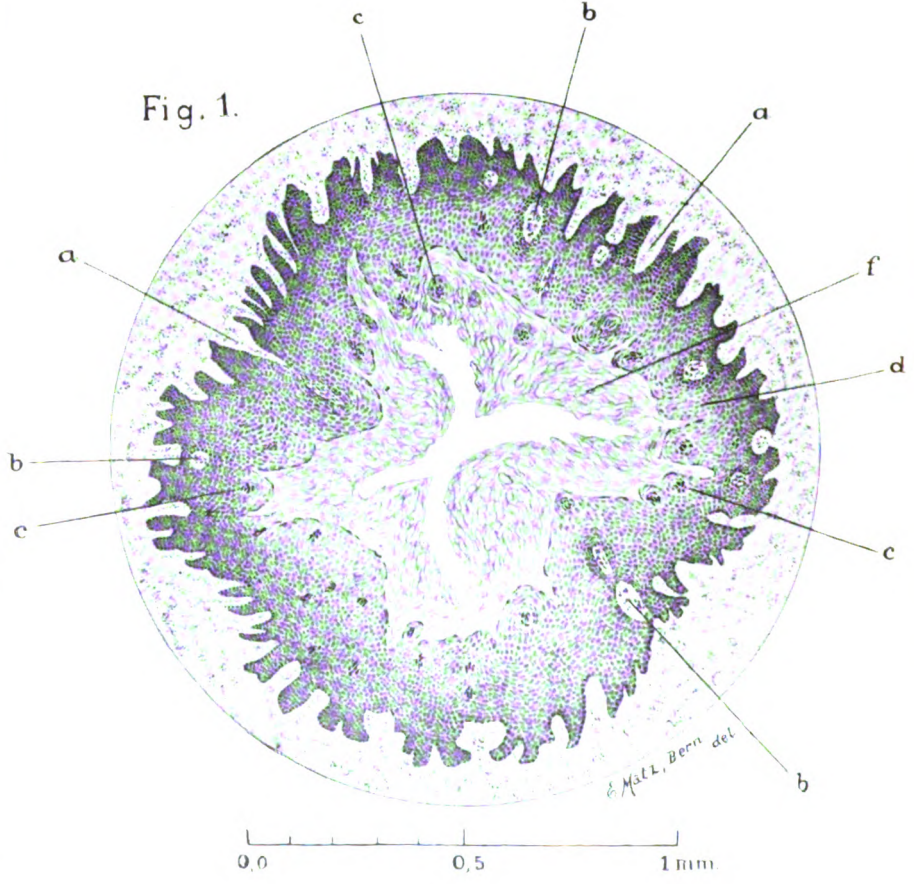
Cisterne: Beim Absuchen des Epithelrandes sind einige winzige Sekretreste wahrzunehmen. Darin nur wenig Stäbchen und Kokken.

Die Zitze der Ziege enthält, wie diejenige der Kuh, in allen Teilen Stäbchen und Kokken, doch ist die Zahl derselben im Vergleiche zum Rinde klein zu nennen. Der Strichkanal birgt in der Regel sehr viel Stratum mortificatum.

VI. Zitze eines Schafes.

Ich beschränke mich bei diesem Tiere wiederum auf das Anführen zweier Befunde, da alle Schnitte sehr ähnliche Verhältnisse boten.

Fig. 1.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Strichkanal: Stratum mortificatum gut entwickelt. Am Epithelrande sowie vereinzelt zwischen Epithelschuppen liegend, sehr wenig Stäbchen und wenig Kokken; einzelne Kokkenhäufchen, Marksäulchen und Zotten deutlich wahrnehmbar.

Cisterne: Längs des Epithelrandes sowie vereinzelt im Lumen kleinste Sekretüberbleibsel; in einigen davon selten Stäbchen nachweisbar; wenig Kokken, zuweilen in kleinen Häufchen auftretend.

Wie bei den ersterwähnten Tieren, so enthält auch der Zitzenkanal des Schafes fast stets reichliche, abgestoßene Epithelien. In allen Querschnitten des Ductus papillaris sind Stäbchen und Kokken in annähernd gleichen Mengen wie bei der Ziege nachzuweisen. Auf die Gegenwart von Bakterien im Strichkanale des Euters kann man daher bei allen Haustieren rechnen.

Vorliegende Arbeit wurde im veterinär-pathologischen Institute der Universität Bern auf Veranlassung des Herrn Prof. Guillebeau ausgeführt. Es gereicht mir zur angenehmen Pflicht, demselben für seine wohlmeinenden Ratschläge sowie für das Interesse, welches er an meiner Arbeit nahm, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Backhaus und Appel, Ueber aseptische Milchgewinnung. (Molkerei-Ztg. 1898. No. 4.)
- 2) Barthel, Recherches sur les microorganismes de l'air des étables, du lait au moment de la traite et de la mamelle. (Revue générale du lait. T. I. p. 505.)
- 3) Boekhout und Ott de Vries, Ueber die Reifung der Edamer Käse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
- 4) Burri, Die Bakterienflora der frisch gemolkenen Milch gesunder Kühe. (Schweiz. landwirtschaftl. Centralbl. Jahrg. XXI. 1902. Heft 11 u. 12. p. 295.)
- 5) Frank, zitiert nach Kitt, Neue Mitteilungen über Mastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. II. 1891.)
- 6) v. Freudenreich, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 2. Aufl. 1898. p. 25—31.
- 7) v. Freudenreich und Thöni, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zu dem Käsercifungsprozesse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 305.)
- 8) Guillebeau und Hess, Ueber die Symptomatologie und Therapie der Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. VIII. 1894. p. 274.)
- 9) —, Ueber die Symptomatologie der Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und den übrigen Haustieren. (Ibid. Bd. V. 1891.)
- 10) Kitt, Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. 2. Aufl. Bd. I. 1900. p. 204—207.
- 11) —, Neue Mitteilungen über Mastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. II. 1891.)
- 12) Lux, Ueber den Gehalt der frischgemolkenen Milch an Bakterien. (Inaug.-Diss. von Bern und diese Zeitschrift 1903.)
- 13) Simon, Bakterien an und im Kuheuter. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1898.
- 14) Steiger, Inaug.-Diss. Bern 1903.
- 15) Ward, The invasion of the udder by bacteria. (Cornell University, Agricultural Experimentstation. Bulletin 178); zitiert nach Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. p. 689.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Schnitt durch den Ductus papillaris einer Kuh: *a* Leiste, *b* Zotten, *c* Marksäulchen, *d* Riffelzellenschicht, *f* verhorntes Epithel (Maniowski's polnisches biologisches Archiv Lemberg).

Nachdruck verboten.

The giant *Trypanosoma* discovered in the blood of bovines.

By Prof. Alfred Lingard, M. B.,
Imperial Bacteriologist to the Govt of India.

With 1 plate.

In volume I of my Surra Report published in 1893, I stated that it was my intention to bring out three volumes and that the third would contain the "Life history of the Infusorian". Unfortunately in 1899 during my absence in Europe the Laboratory was destroyed by fire, together with the manuscript of volume III, all microscopical specimens, photographs and drawings, bearing on this and other researches. Since that date some rough notes have been discovered relating to experiments carried out in Poona and Lantern Slides of the giant *Trypanosoma* discovered in the blood of bovines. These latter which were exhibited and described in Simla in 1895, have been kindly returned to me by the Director of the Army Remount Department in London.

In the present paper it is my intention to bring forward the circumstances attending the different appearances of the giant *Trypanosoma* in two animals as previously summarized shortly in Surra Report. Vol. II¹⁾ and in addition to present reproductions of the pencil drawings made of the various specimens of the large *Trypanosoma* discovered.

Unfortunately only single examples of this haematozoon were observed on the same dates, and these were only recognised in fresh cover glass preparations of blood, so that but limited opportunities of noting peculiarities and the reaction of the organisms to staining methods were admissible.

In the following notes will be found the chief facts of interest connected with the appearance of the small varieties and of the giant *Trypanosoma* in the blood of bovines kept under observation for several years in succession.

Case I.

Bull I. This animal was brought to the Poona Laboratory on March 5th 1891 and was kept under observation until the 24th during which period the animal appeared to be in health and an daily microscopical examination of the blood nothing abnormal was observed. On the latter date it was inoculated subcutaneously with 1.75 ccm of blood containing numerous Surra *Trypanosoma*, drawn from the jugular vein of horse No. XIX. The haematozoon appeared in the circulation for a period of 24 hours after an incubation period lasting 5 days and then disappeared for 24 hours, to be again present for 48 hours. Then followed an intermission lasting 507 days during which interval daily microscopical examination of two or more coverglass specimens of blood failed to discover the presence of the Surra *Trypanosoma*. On August 22nd 1892, seventeen months from the date of the primary inoculation of the animal, as no *Trypanosomata* had been discovered in the blood since 2nd April, 1891, it was determined to reinoculate it with a more virulent type of the disease obtained by passing one variety of the *Trypano-*

¹⁾ Surra Report. Vol. II. Parts 1 and 2. 1898. p. 88. (Foot-note) and 152—155 respectively.

somata sometimes contained in the blood of the rat (m. d.), through the horse and donkey by subcutaneous inoculation. Therefore one cubic centimetre of blood containing very numerous and active haematozoa drawn from the jugular vein of donkey No. II was subcutaneously injected over the left scapular region. Five days after on 27th August 1892 a giant form of *Trypanosoma* was observed in a cover glass preparation of blood obtained from the muzzle of the animal. The length of the haematozoon was equal to the diameter of 14 red blood corpuscles and its width at the widest part was equal to 2,5 to 3 red corpuscles. A round nucleus was readily discernible in the protoplasm of the dilated portion of the body of the organism. The body remained almost motionless, while the long flagellum twisted and twirled, lashing the corpuscles to right and left, at a later period the undulating membrane became very distinct. Microscopical examination of the blood of this bull was continued twice daily for a further period of 306 days (October 7th 1893) but no *Trypanosoma* either of the larger or small variety was again observed.

To recapitulate

1) Blood of bull No. I examined microscopically during 19 days period of observation appearance normal.

2) Inoculation (subcutaneously) with equine surra blood small *Trypanosoma* appeared for three days and remained absent for 507 days.

3) Reinoculation with blood from donkey No. II organisms primarily derived from rats blood.

4) Non appearance of small variety of *Trypanosoma*, blood examined for further period of 306 days.

5) Five days after reinoculation, giant *Trypanosoma* observed in blood for one day only.

Case II.

Cow No. I. Deccani breed, aged 6 years, healthy and in good condition was brought to the Poona Laboratory on 23rd August 1892. On daily microscopical examination of the blood during a period of 6 days, nothing abnormal was noted. On 28th August 1892 the animal was inoculated subcutaneously with 1,0 ccm blood containing numerous *Trypanosomata* taken from the jugular vein of donkey No. II¹).

The small haematozoon appeared in the blood on the 6th day after inoculation. Four paroxysms of 5, 1,1 and 2 days with three intermissions lasting 55, 18 and 21 days respectively followed.

On 7th November 1892 between the 2nd and 3rd paroxysms, viz: on the 6th day of the 2nd intermission and during the temporary absence of the small inoculated *Trypanosoma*, a large organism was observed but many times the length of the small *Trypanosoma*. It exhibited a somewhat similar outline and body movements but no undulating membrane was discernible. (Illustration B. 1.) Although the blood was carefully examined microscopically daily up to the 9th February 1893 no further example of the giant *Trypanosoma* was discovered, the small variety, however, made its reappearance 12 days after the above observation was made. On the 9th February 1893 the animal under experiment was

1) Donkey No. II was subcutaneously inoculated with blood from horse No. LXVII, previously inoculated with blood from horse No. LXII, which latter animal received on May 14th 1892, 2,0 ccm blood containing very numerous haematozoa taken from the heart of a large rat (m. d.) immediately after being killed.

reinoculated subcutaneously with 2,0 ccm of blood containing numerous *Trypanosomata* drawn immediately after death from the jugular vein of horse No. LXXXIV a case of spontaneous surra. The surra organism appeared in the circulation of the inoculated animal after an incubation period lasting 10 days. Six paroxysms followed of 1, 1, 2, 1, 1 and 2 days, with five intermissions of 10, 29, 70, 9 and 36 days respectively. From the date of the last paroxysm October 28th 1893, observations were maintained daily for a further period of 203 days viz: to 19th March 1894, but the small variety of *Trypanosoma* did not reappear in the blood.

The second occasion on which a single example of the giant *Trypanosoma* was observed in the cover glass specimens of blood taken from this animal was on June 15th 1893, 127 days after reinoculation from horse No. LXXXIV (Illus. B. 2). Two guinea-pigs each inoculated with 0,5 ccm of blood direct from the cow contracted surra after 2 days incubation and death occurred in 9 and 7 days respectively, but no examples of the large *Trypanosomata* were discovered in their circulation although diligently searched for in the blood and tissues of the organs and marrow of the bones. The third observation of the giant *Trypanosoma* was made on 3rd July 1893 when again a single example was discovered (Illus. B. 3).

The fourth observation of a single example of the giant *Trypanosoma* (Illus. C. 1, 2, 3 and 4) occurred on 2nd September 1893 during the prolonged absence of the small variety of surra haematozoon. Microscopical observations with regard to the condition of the blood were continued daily for a further period of 271 days to 31st May 1894 but neither the large nor the small forms of *Trypanosomata* were again encountered. During the presence of the giant *Trypanosoma* in the circulation of the affected animal, there was no oscillation in the temperature from the normal and in fact no symptom of any kind to show that its presence acted as a foreign body. The blood corpuscles exhibited a perfectly normal appearance and no anaemia was observable. The blood of animals inoculated with the blood of the bovines drawn at the time when the giant *Trypanosomata* were present, including equines, monkeys, dogs, rabbits and guinea-pigs, although kept under observation for long periods never revealed, on daily microscopical examination, the presence of this large variety of haematozoon. In addition to the several bovines subcutaneously inoculated with the blood of rats (m. d.) containing large numbers of haematozoa the above mentioned animals bull I and cow I alone exhibited the giant *Trypanosoma*.

Plains and hill bulls which only received blood subcutaneously from spontaneous cases of horse surra and which were kept under observation for several years at a time never exhibited the large variety of haematozoon in their circulations.

To sum up the case of cow No. I

- 1) Blood microscopically examined during 6 days observation. Appearance normal.
- 2) Inoculated with blood from donkey No. II organisms primarily derived from the rat. Small *Trypanosoma* appeared on 6th day.
- 3) Appearance of giant *Trypanosoma* for one day only. 72nd day after inoculation.
- 4) After an interval of 97 days from discovery of large haematozoon, animal reinoculated with spontaneous equine surra, appearance of small variety of haematozoon after 10 days incubation.

5) Reappearance of giant *Trypanosoma*, on the 127th, 145th and 206th day following reinoculation.

Negative results followed further examination of the blood during period of 271 days.

As previously mentioned owing to the loss of the manuscript of Vol. III and all drawings of work completed during several years in Poona, and as no further opportunities have occurred since 1895 when the present laboratory was opened in the Himalayas 1100 miles from Bombay, I am unable to substantiate my assertions by illustrations previously prepared for the purpose, but can only state that it is my opinion that

1) The blood of rats (m. d.) may at times in India — when such animals are caught in the houses of a large native community bordering on a river — contain more than one variety of *Trypanosoma* at one and the same time.

2) That during the hot season in Poona when the waters of the Mutha-Mulla Rivers were at their lowest and therefore sluggish and the waters concentrated, several varieties of *Trypanosomata*¹⁾ were discovered varying considerably in size, but presenting in all cases the most marked development of the undulating membrane.

The following is a short summary of the most important points observed with regard to the presence or otherwise of the giant *Trypanosoma* and an attempt to explain how this form of infusorian may have obtained access into the systems of the affected bovines.

1) In all the specimens of the bovine blood microscopically examined by me during the past thirteen years in different provinces in India, the giant *Trypanosoma* has neither been found in fresh or stained specimens obtained from the circulation of healthy animals, nor under the following conditions.

2) In the blood of bovines inoculated with soiled material primarily obtained from spontaneous cases of equine surra.

3) In the blood of rats (m. d.) examined during each month of the year, totalling over 3,000 in number.

4) In the circulation of bovines inoculated with soiled blood direct from the rat (m. d.).

It has only been observed in the blood of bovines inoculated with blood containing the small variety of *Trypanosoma*, primarily derived from the rat after being passed by inoculation through the horse and donkey previous to being subcutaneously injected into bovines.

The giant *Trypanosoma* must therefore in the cases above quoted, either

1) Have had its habitat in the blood of bovines and lying dormant, only appeared when circumstances favoured its development.

2) Or, it must have been introduced in the soiled blood of the rat.

As in both instances brought forward this haematozoon was never discovered in the blood of the respective animals which were received

1) The surest and easiest method of obtaining such specimens of *Trypanosomata* was found to be by passing the blade of a scalpel lightly from before backwards over the external surface of the gills of recently caught fish of some size, as for instance specimens of *Barbus carnaticus* and *Ophiocephalus striatus*. The blood of these varieties of fish frequently contained haematozoa, but in one of a smaller size the *Rhyncobdella aculeata* they were generally present, but in no wise could they be confused with those *Trypanosomata* collected from the external surface of the gills.

from different portions of the district, many miles apart, until after inoculation with soiled blood primarily derived from the rat, it would appear feasible that this large *Trypanosoma* was introduced with the blood of the donkey, probably in an immature form and only found the necessary conditions present for further development in the blood of bovines. This variety of *Trypanosoma* was neither observed in the specimens of equine blood withdrawn from the circulation of the horses utilized to convey the small *Trypanosoma* between the rat and donkey (which specimens were submitted to daily microscopical examination) nor in those animals which were later inoculated with blood from the bovines in which the giant *Trypanosomata* were demonstrated.

Further as this large form a *Trypanosoma* was never come across in specimens of blood of bovines following inoculation with blood containing the ordinary rat *Trypanosoma* in large numbers, examined daily for long periods, it can only be surmised that the injected blood from the small rodents utilized on those occasions did not contain either in a mature or immature form any of the organisms in question. All the three *Trypanosomata* figured in A., B. and C. appear at first sight to be quite distinct species, but as B. and C. were discovered in the blood of the same animal (cow I) but on different dates the figures may demonstrate different periods only in the life history of the same species of *Trypanosoma*.

Explanation of Plate.

Bull I.

A. 1. August 27th 1892, 11 a. m. A giant *Trypanosoma* discovered in the blood of bull No. I chromatin body faintly distinguishable. Length of *Trypanosoma* 14 times diameter of red blood corpuscle.

2. Four hours later 3 p. m. Giant *Trypanosoma* showing undulating membrane distinctly together with the chromatin body. Between A. 1 and 2 a red corpuscle has been depicted in order to indicate the respective sizes of the *Trypanosoma*. Length of *Trypanosoma* 21,2 times diameter of a red blood corpuscle.

Cow I.

B. 1. November 7th 1892. A giant *Trypanosoma* was discovered in the blood of cow No. I. Length of organism 20,4 times diameter of a red blood corpuscle.

2. June 13th 1893. A second giant *Trypanosoma* as seen in the blood of cow No. I. Length of organism 22,24 times diameter of a red blood corpuscle.

3. July 3rd 1893. A third giant *Trypanosoma* as seen in the blood of cow No. I. Length of organism 21,28 times diameter of a red blood corpuscle.

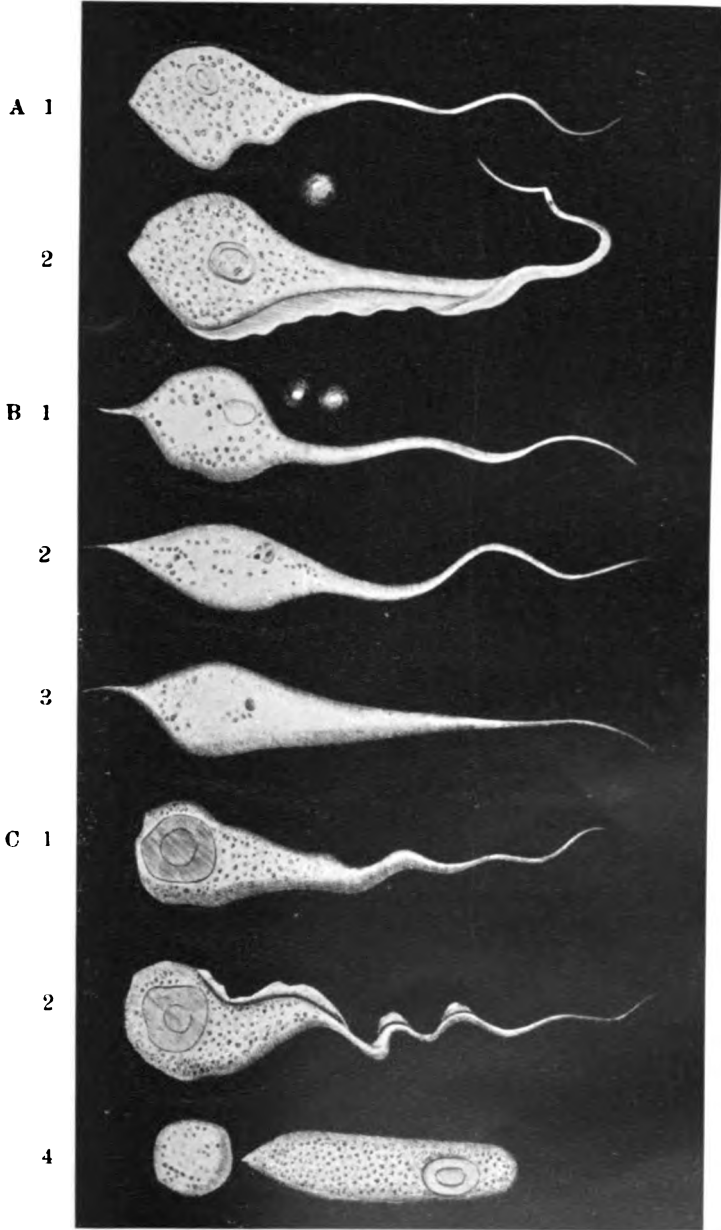
C. A giant *Trypanosoma* as discovered in the blood of cow No. I. The four different phases assumed by the haematozoon were observed on September 2nd 1893 during a period of six and a half hours.

1. Phase of giant *Trypanosoma* as observed between 10 a. m. and 12 noon.

2. Phase of giant *Trypanosoma* as observed at 1 p. m.

3. Cigar shaped form assumed at 1,30 p. m.

4. Circular or ball form assumed at 4,30 p. m.



Nachdruck verboten.

Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben¹⁾.

[Laboratorium der allgemeinen Pathologie, Ferrara.]

Von Prof. **Eugenio Centanni.**

(Fortsetzung.)

VI. Physikalische und chemische Eigenschaften der autozytopräzipitierenden Substanzen.

Die Untersuchungen wurden über das Serumzytopräzipitin, über die präzipitable Substanz des Organextraktes und über das Cytopräzipitat, welches sich aus deren Zusammensetzung ergibt, angestellt, und sie hatten das Ziel, differentielle Eigenschaften einerseits gegenüber den gewöhnlichen Heteropräzipitinen, andererseits gegenüber den Reagentien des Fibrins bei der normalen Gerinnung festzustellen.

Das Cytopräzipitat hat unter dem Mikroskop das Aussehen von gehäuften, dünnen Granulationen in Flocken oder Streifen, nicht das faserige und netzförmige Aussehen des Fibrins. Daher kommt die leichte Zersetzung des Cytopräzipitats, welches auch, wenn es die Form eines einzigen Blockes angenommen hat, durch kräftiges Schütteln der Röhre sich in Bruchstücken auflöst, was beim Fibringerinnsel nicht gelingt. Das Fibrin nimmt auch im verdünnten Blute die Form einer einzigen, mehr oder minder dichten Flocke an; das Cytopräzipitat in den verdünnten Lösungen erscheint wie leicht aufrührbare Flöckchen.

Das Cytopräzipitat verhält sich vollständig negativ gegenüber dem Verfahren von Weigert, und verliert sofort die Farbe, wenn Anilinöl zugesetzt wird, sowohl wenn die Reaktion frisch ausgeführt wird, wie an der eingebetteten und dann geschnittenen Substanz. Wenn man Fibrinflocken mit der Masse des Cytopräzipitats mischt und die Weigertsche Reaktion anstellt, fallen die Fibrinfasern in violetter Farbe zwischen dem ungefärbten Cytopräzipitat sehr deutlich auf.

Das Cytopräzipitat ist unlöslich in Wasser, Alkohol, in Aether; mit HCl 1 Proz., CO_3Na_2 1 Proz., ClNa 8 Proz. behandelt, wird es etwas gequollen, am wenigstens in HCl, wird aber nicht oder doch nicht sehr deutlich gelöst; in dem Ueberschuß der Flüssigkeiten, wo es sich gebildet hat, insbesondere der präzipitablen Substanz, nimmt es manchmal ab, immer bleibt aber ein beträchtlicher Teil davon ungelöst zurück. Diese Eigenschaften fallen eher mit denjenigen des Fibrins als mit denjenigen der Heteropräzipitate zusammen, welche ziemlich leicht von verschiedenen Reagentien wieder gelöst werden: Durch verdünnte Alkalien und Säuren, durch konzentrierte Lösungen von Harnstoff, durch Formaldehyd, Chlormagnesium, durch den Ueberschuß der Reagentien und hauptsächlich der präzipitablen Substanz, durch große Flüssigkeitsmenge, nicht aber durch alkalische Carbonate und durch, wenn auch konzentrierte, ClNa -Lösungen (Tschistowitsch, Müller, Pick, Eisenberg).

Die an dem Serumzytopräzipitin angestellten Untersuchungen haben vor allem den Widerstand gegenüber der Wärme ermittelt, welcher eigentümlich niedrig vorgefunden wurde; bei allen Untersuchungen über die Sera verschiedener Herkunft und über die Milz der akuten Chromat-

vergiftung wurde immer beobachtet, daß zwischen 48° und 51° die Wirksamkeit beträchtlich herabgesetzt und bei 53° vollständig vernichtet wird. Auch das Fibrinogen verliert das Vermögen bei einem nur wenig höheren Temperaturniveau, da es an der Grenze seiner Gerinnung steht; das Cytopräzipitin wird aber unwirksam, indem es auch bei mehr als 65° vollständig klar bleibt. Wenn man die beiden Reagentien zusammenmischt und sofort die Röhre eine halbe Stunde lang auf 57° bringt, erscheint der Niederschlag nicht mehr; dies zeigt, daß die Zusammensetzung beider Reagentien sich nicht augenblicklich vollzieht und daß die Wärme, wenn sie das freie Präzipitin trifft, die Wirkung derselben vernichtet.

Die Reaktivierungsversuche an dem durch Wärme abgeschwächten Cytopräzipitin, welche durch Zusatz von frischem Menschen- und Hundeserum ausgeführt wurden, fielen negativ aus; es erscheint also, daß daselbe die molekuläre Konstitution der Hämolsine mit Ambozeptor und Komplement nicht besitzt, vielmehr diejenige der Toxine, da die Myers gelungene Reaktivierung des Peptonpräzipitins bei den übrigen Produkten dieser Reihe nicht bestätigt worden ist.

Der geringen Widerstandsfähigkeit des Serumpräzipitats gegenüber steht die erhebliche Widerstandsfähigkeit der präzipitablen Substanz der Gewebe, welche weder bei 53° noch bei 65° in irgend welcher Weise leidet und dessen Wirkung teilweise noch bei 72° deutlich ist. Mir ist es sogar vorgekommen, daß das Gewebsextrakt, nachdem es bei 53° und 65° gehalten worden und klar geblieben war, einen ausgiebigeren Niederschlag als das normale Extrakt aufwies. Aehnliche Erscheinung sah Pick bei den präzipitablen gekochten Bakteriensubstanzen, und er meint, daß die Wärme irgend eine der Fällung antagonistische Substanz eliminiert hat.

Das Fibrinferment wird bei etwa 60° zerstört und die Serumpräzipitine bei 70°, so daß in dieser Hinsicht die Elemente der Cytopräzipitation eine wohlgesonderte Stellung einnehmen. Sie bieten einige Aehnlichkeit mit den von Pick untersuchten Bakterienpräzipitinen A und K des Typhus und der Cholera, die schon bei 58°—60° zerstört werden, und noch mehr mit dem Myers'schen Peptonpräzipitin, das bei 56° unwirksam wird. Dagegen weisen die entsprechenden, aus den Bakterien und dem Pepton ausgezogenen präzipitablen Substanzen eine sehr hohe Widerstandsfähigkeit auf, da sie ohne Schädigung gekocht werden können. Der Siedehitze widersteht auch die präzipitabile Substanz der Milch; das Aalserum (Tschistowitsch) verliert vollständig seine Wirksamkeit erst bei 80°, und bekanntlich widersteht die präzipitabile Substanz der in der gerichtlichen Medizin untersuchten Blutflecken den stärksten abschwächenden Agentien.

Es ist bekannt, daß es Calmette und Wassermann gelang, aus neutralisierten Mischungen des Toxins und Antitoxins des Schlangengiftes und des *Pyocyaneus* einen der Komponenten wiederzugewinnen, d. h. wieder zu befreien, indem sie die verschiedene Empfindlichkeit gegen die Wärme benutzten. Müller gelangte schon zu diesem Resultat für das Milchpräzipitat, das einer konzentrierten Lösung von Essigsäure ausgesetzt, das Präzipitin wieder frei gab.

Ich habe nach dieser Richtung zwei Untersuchungsreihen angestellt, indem ich den Niederschlag der Wirkung der Temperatur von 53° und der peptischen und tryptischen Verdauung ausgesetzt habe. Im ersteren Falle erhält man kein Zeichen von Rückkehr zur Löslichkeit, im letzteren

tritt die vollkommene Verdauung auf. Wenn dann die filtrierten Flüssigkeiten mit wirksamem Präzipitin und mit präzipitabler Substanz behandelt werden, kommt gar kein Erfolg zu stande; d. h. entweder erhält man nicht die gesuchte Trennung oder die Produkte werden durch die Verdauung zerstört, wie dies Pick für die Bakterienpräzipitine und Michaëlis für die Serumpräzipitine gezeigt haben.

Der Aufbewahrung gegenüber erschien das Cytopräzipitin erheblich widerstandsfähig; das ohne Zusatz im Dunkeln und bei einer Temperatur von 8° — 12° gelassene Serum hat sich länger als 2 Monate wirksam gehalten; seine Wirksamkeit nahm aber allmählich ab, vielleicht auch in Zusammenhang mit den Niederschlagsflocken, die sich allmählich absetzten. Das zuerst verschwindende scheint das in der physiologischen Lösung unlösliche Präzipitin zu sein, da das Mischintoxikationsserum am 25. Tage, während die Verdünnung erfolglos blieb, sich in einen Block zusammenzog, wenn man Gewebsextrakt hinzufügte. Dies ist eine Bestätigung und ein neuer Unterschied zwischen den beiden Präzipitinformen.

Das aufbewahrte Tuberkuloseserum erteilte unabhängig von jeder Verunreinigung dem Lackmuspapier eine schwach saure Reaktion; auch beim Gewebsextrakt kann die saure Reaktion, welche es selbstverständlich einige Zeit nach dem Tode zeigt, zur ausgesprochen alkalischen Reaktion übergehen, wenn beim Zerreiben die Pulver einiger löslicher Glasarten angewendet werden. Das hat dazu geführt, die Wirkung der Reaktion für das Zustandekommen der Zusammensetzung zu untersuchen; es ergab sich, daß eine deutliche saure oder alkalische Reaktion die Fällung nicht beeinträchtigt, ein Ueberschuß von Alkali aber, welcher durch tropfenweisen Zusatz von einer CO_3Na_2 -Lösung erhalten wird, vermindert zuerst die Reaktion und verhindert sie dann vollkommen. Die Säure ruft selbst einen Niederschlag von Globulinen hervor. Für das Serumpräzipitin wäre nach Tschistowitsch die alkalische Reaktion notwendig und die Säure würde die Zusammensetzung aufheben; nach Rostowski sollte gerade das Umgekehrte geschehen. Vielleicht handelt es sich nur um graduelle Unterschiede, aber die Heteropräzipitine scheinen wegen der leicht auftretenden Wiederlöslichkeit ihres Niederschlages empfindlicher zu sein.

Die Möglichkeit, ein antikoagulierendes Mittel zu finden, das nicht gleichzeitig antipräzipitierend wäre, wäre sehr nützlich, um die Eigenschaften des Fibrinogens und des Präzipitins getrennt zu untersuchen, und um die präzipitable Substanz zu vermeiden, welche aus den Blutkörperchen im Augenblicke der Gerinnung diffundieren kann. Der Auszug von Blutegelköpfen, das Kaliumoxalat 0,2 Proz. und teilweise 0,1 Proz., das Magnesiumsulfat $\frac{1}{4}$ der gesättigten Lösung, das Ammoniumsulfat $\frac{1}{8}$ der gesättigten Lösung sind aber gleichzeitig antikoagulierend und antipräzipitierend. Wenn man durch Dialyse die Salze trennt, tritt ein voluminöses Gerinnsel auf; der flüssige, im Vakuum konzentrierte Teil gibt mit dem Gewebsextrakt keinen Niederschlag mehr; die Entfernung des Oxalats mit Cl_2Ca gibt auch eine unwirksame Flüssigkeit.

Von diesem Standpunkt aus nähern sich die Autozytopräzipitine den Serum- und Milchpräzipitinen, bei denen Eisenberg und Fuld die antikoagulierende Wirkung des Mg-Sulfat und Mg-Chlorid und der Trennung der Ca-Salze beobachtet haben, während nach Michaëlis die

Fällung des Serums des Menschen und des Kalbes ohne die Gegenwart von Ca-Salzen stattfinden kann. Die Autozytopräzipitine unterscheiden sich aber vollständig von den Bakterienpräzipitinen von Pick, bei welchen weder der Zusatz von Cl_2Ca die Wirkung beschleunigt noch Ammoniumoxalat, Natriumcitrat und Blutegelextrakt sie verhindern, daher nimmt der Verf. einen wesentlichen Unterschied zwischen der Fällung mit Antikörpern und derjenigen mit Fermenten an.

Viele Untersuchungen wurden darauf gerichtet, ein Desinficiens zu finden, das die Fällung nicht verhinderte; davon hat teilweise das Serum einen Vorteil, vielmehr aber das Gewebsextrakt, welches eine solche Behandlung verlangt, die die Verunreinigung der Luft unvermeidbar macht. Das Chloroform und das Phenol 0,5 Proz. bieten den Nachteil, selbst einen Niederschlag zu erzeugen, welcher beim reinen Serum bloß eine Opaleszenz, beim Gewebsextrakt aber die Form reichlicher rostfarbiger Ablagerung annimmt.

Das Chloroform wurde von Formánek, von Salkowsky und von Krüger untersucht, und es stellte sich heraus, daß es sich um eine präzipitierende Wirkung auf das hämatische Pigment handelt. Für das Phenol habe ich dieselben, von jenen Verff. beschriebenen Erscheinungen sich wiederholen sehen. Da diese antiseptischen Fällungen nur bei Ofenwärme sehr rasch auftreten, so kann man, wenn man die Präzipitinreaktion im Zimmer ausführt, sehen, daß das 0,5-proz. Phenol das Auftreten der Reaktion nicht verhindert. Dieser Zusatz aber ist bei fortgesetzter Berührung schädlich, wie es das Tuberkuloseserum zeigt, das nach dem 10. Tage keinen Niederschlag gab, ohne daß die Anfangsopaleszenz zugenommen hätte.

Das Menthol, das Thymol, das Toluol wurden beim Mischintoxikationsserum geprüft; das erstere gab selbst einen Niederschlag, die beiden anderen bloß eine Verschleierung; die am 15. Tage mit Gewebsextrakt untersuchten Proben erwiesen sich negativ, nachdem man mittelst der Pumpe das Antiseptikum zu entfernen gesucht. Der Mangel an einem geeigneten Antiseptikum schadet diesen Untersuchungen beträchtlich und kann nur teilweise durch Asepsis und die Aufbewahrung bei niedrigen Temperaturen ersetzt werden. Von diesem Standpunkt aus erscheinen die Autozytopräzipitine weniger widerstandsfähig, als die Serum- und Bakterienpräzipitine, welche sich in Gegenwart von Phenol, Chloroform, Toluol und Natriumfluorid eine beträchtliche Zeit lang halten (Uhlenhuth, Pick, M. Ascoli); die Bakterienpräzipitine aber erwerben, wenn sie von dem Serum durch den Niederschlag von Euglobulin getrennt werden, eine große Labilität gegen die Aufbewahrung in Toluol.

Es hat sich herausgestellt, daß auch die Aufbewahrung des im Vakuum auf Schwefelsäure ausgetrockneten Serums nicht möglich ist, da dann weder die physiologische, noch eine schwach alkalische Lösung im stande ist, trotz langen Aufenthaltes im Ofen die Schuppen wieder löslich zu machen, welche nur quellen, ohne das klebrige Aussehen des physiologischen Serums wiederzugewinnen. Wenn man Gewebsextrakt zu der dekantierten Aufgußflüssigkeit hinzusetzt, erfolgt gar keine Fällung.

Die Löslichkeitsveränderungen bei den ausgetrockneten Seris treten bei dem von Impfungstieren entnommenen Material leicht auf: Wenige immunisierende Sera lösen sich wieder vollständig klar, oft bleiben schwimmende Flocken zurück und manchmal tritt gerade die eben er-

wähnte Unlöslichkeit ein. Da ich diese Erscheinung durch die verschiedensten Behandlungen (Sera gegen Rabies, Tetanus, Pneumokokken, cytotoxische Sera etc.) beobachtet habe, und sie nicht in Zusammenhang mit der Art und der Zeit der Aufbewahrung, sondern vielmehr mit der Länge der Impfung auftritt, so muß man mit aller Wahrscheinlichkeit auch hier an das Vorhandensein der in Rede stehenden Produkte denken, welche durch die fortgesetzte Impfungshistolyse hervorgerufen werden.

Die Untersuchungen über die Filtrierbarkeit des Cytopräzipitins und der präzipitablen Cytosubstanz hatten die Aufgabe, die Löslichkeitsbedingungen beider Körper zu erforschen, und sie eventuell für die Aufbewahrung zu benutzen. Das durch eine kleine Berkefeldsche Kerze filtrierte Serum behält bloß zum kleinsten Teil seine Wirkungskraft; durch eine dichtere Kerze filtriert, gibt es eine vollkommen unwirksame Flüssigkeit. Die Kolloide werden im allgemeinen in der Flüssigkeit nicht als gelöst, sondern bloß als gequollen vorgestellt; und ihre Zurückhaltung seitens der porösen Kerzen tritt um so leichter in dem Falle ein, in welchem die wirksame Substanz sich in den niedrigsten Löslichkeitsgrenzen befindet, wie wir jetzt für die Autozytopräzipitine zeigen werden. Die durch die Kerze durchfiltrierte Milch verliert auch die Fähigkeit, mit dem Milchserum zu reagieren (Fuld).

Die präzipitable Cytosubstanz der Gewebe ist auch wenig löslich in der physiologischen Lösung. Man kann ein vollkommen klares, wirksames Plasma gewinnen, oft genügt aber das einfache Filtrieren durch Papier, um dasselbe teilweise und manchmal vollständig seiner Wirkungskraft zu berauben. Diese Beobachtungen gaben den Rat, bei den Reaktionen gewöhnlich die zentrifugierte und noch opaleszierende Gewebsemulsion zu verwenden. Die soeben erwähnte Tatsache läßt an die Möglichkeit eines Fehlers denken, welchen man immer bei der Beurteilung der Spezifität in Betracht ziehen muß. Wenn das Organextrakt erkrankter Tiere mit dem eigenen Serum behandelt wird, und man eine ausgiebigere Fällung in dem von den pathologischen Prozeß mehr betroffenen Organe auftreten sieht, muß man, bevor man einen Schluß auf die Spezifität zieht, den Einwand ausschließen, daß beim erkrankten Organe durch Verstärkung der intracellulären Fermente ein allgemeines Produkt in größerer Menge löslich geworden ist, welches aber bei der Bereitung des Auszuges der gesunden Organe zwischen den entfernten Emulsionsdetriten der Reaktion unzugänglich zurückbleibt.

Ein Studium, welches von Tizzoni für das tetanische Antitoxin inauguriert, jetzt mit großem Erfolg kultiviert wird (Dieudonné, Belfanti und Carbone, Freund und Sternberg, Seng, Nolf, Leblanc, Pick) besteht darin, die fraktionierte Fällung durch die neutralen Salze auf die Sera anzuwenden, um zu entscheiden, welchem Bruchteile die bei denselben beobachteten Eigenschaften zukommen. Ich habe mittelst des Ammoniumsulfates von dem Pneumonieserum 28 Proz. Fibringlobulin, 34 Proz. Euglobulin, 44 Proz. Pseudoglobulin, 100 Proz. Albumin getrennt, und dann habe ich die Dialyse folgen lassen, um die antipräzipitierende Wirkung von kleinen Salzengen zu beseitigen. Von dem ersten, in physiologischer Lösung wieder aufgenommenen Bruchteil löst sich nur ein Teil der Flocke. Bei der Prüfung der Flüssigkeiten der vier Bruchteile mit Gewebsextrakt erhält man vollständig negativen Ausfall bei den drei letzten, nur einen schwachen Niederschlag bei dem ersten. Man muß annehmen, daß das Präzipitin größten-

teils von den durch Ammoniumsulfat am Titer des Fibringlobulins gebildeten und dann unlöslich zurückgebliebenen Flocken dargestellt wird.

Da diese Probe deutlich darauf hinweist, daß das Autozytopräzipitin in dieselbe Reihe des Fibrinogens eintritt, so habe ich bei dem Mischintoxikationsserum die Fällungsmethode dieser Substanz angewendet, ein Volumen von gesättigter ClNa -Lösung hinzufügend. Man erhält zunächst einen Niederschlag in dickeren Flocken und dann setzen sich langsam kleinere Flöckchen hinzu; der Niederschlag löst sich nur teilweise und die Flüssigkeit gibt gar keine Reaktion mit dem Gewebsextrakt und muß einen leichter ausfällbaren Teil der Globuline des normalen Serums darstellen, wie es bekannt ist und die gleiche an diesem Serum angestellte Kontrollfällung beweist.

Die Flocken lösen sich auch nicht in der 8-proz. Lösung von ClNa , in der das Fibrinogen, wenn auch bloß teilweise, löslich ist. Was die halbgesättigte filtrierte ClNa -Lösung betrifft, welche den Proteinrest enthält, dialysiert und konzentriert, mit dem Gewebsextrakt behandelt, so gibt auch sie keinen Niederschlag; man muß daher annehmen, daß das Präzipitin wenigstens größtenteils in die unlöslichen Flocken übergegangen ist.

Obwohl diese Fällungsproben durch neutrale Salze durch die Fällung mittels einfacher Verdünnung dieser Substanzen und durch den Umstand kompliziert werden, daß die wirksamen Prinzipie unter der hemmenden oder zersetzenden Wirkung der angewendeten Behandlung leiden können, so haben wir doch Elemente, welche uns zur Annahme führen, daß das allgemeine Autozytopräzipitin der Reihe des Fibringlobulins und jedenfalls den Proteinen angehört, welche in der Reihenfolge der Ausfällbarkeit durch die Lösungen neutraler Salze, wie den übrigen Präzipitinen, am tiefsten stehen.

Die Antikörper im allgemeinen (Diphtherie, Tetanus, Typhus, Cholera etc.) präzipitieren mit den Globulinen, öfter mit den Euglobulinen als mit den Pseudoglobulinen; das Albumin zeigte sich immer unwirksam. Die Typhus- und Cholerapräzipitine und die verhindernde Substanz (Präzipitoid), welche aus ihrer Zersetzung entspringt, gehen dagegen immer in das am leichtesten ausfällbare Globulin, das Euglobulin, über (Pick); auch in das Euglobulin gehen das im Kaninchen bereitete Präzipitin, für das Pferdeserum (Eisenberg), dasjenige des Milchserums (Fuhrmann), dasjenige für das Serum des Menschen und des Kalbes (Michaëlis) über. Hinsichtlich der Schwierigkeit, sich wieder zu lösen, kann das Autozytopräzipitin ein Analogon in einem Derivat des Fibrinogens, dem Parafibrinogen oder Pseudofibrin von Schäffer, finden, welches das unlöslich gewordene Fibrinogen unabhängig von der Beeinflussung des Fibrinfermentes infolge der behufs Reinigung wiederholten Auflösungen und Fällungen darstellt.

VII. Bedingungen des Auftretens des Autozytopräzipitins.

Bei den zum Nachweis des Autozytopräzipitins bei den Seris verschiedener Affektionen angestellten Untersuchungen kann man nicht sehr oft auf ergiebige und deutliche Resultate rechnen. Das ist der Schluß, zu welchen mich verschiedene sowohl experimentelle wie von menschlichem Material gewonnene Beobachtungen geführt haben, insbesondere bei Fällen von Tuberkulose, von Syphilis, von malignen Tumoren, bei denen ich nekroskopisches Material und manchmal, wie bei den Tumoren,

solches von Lebenden benutzte. Wir müssen die Reaktion dieser Mißerfolge noch näher untersuchen, und die Möglichkeiten, welche sich uns zunächst bieten, sind entweder, daß die Autozytopräzipitine Schwierigkeiten haben, sich zu bilden, oder daß sie, nachdem sie gebildet sind, im Organismus durch innere Reaktionen neutralisiert werden, oder daß die Technik noch nicht so gut entwickelt ist, um sie nachweisen zu können.

a) Die Schwierigkeit der Bildung von Autozytopräzipitinen für die Resorption von normalem Gewebe ist begreiflich, da es bekanntlich schwieriger ist, von homologem Material als von heterologem Antikörper zu erzielen, um so mehr, da auch für die heterologe Impfung sich der Organismus in verschiedenen Fällen unfähig erwiesen hat, mit Präzipitinbildung zu antworten. Das Meerschweinchen z. B. reagiert nicht auf Kaninchenblut (Bordet), der Hammel auch nicht auf lange Behandlung mit Menschenblut (Uhlenhuth), die Taube auf Hühnerblut (Nolf), und ich habe die negativen Ergebnisse angeführt, welche durch Behandlung des Schafes mit einer Emulsion vom Herzen des Hundes oder vom Gehirn des Kaninchens erzielt werden.

Kleinere Schwierigkeiten sollen bestehen, wenn der Präzipitinerreger statt von gesundem, einfach losgelöstem Gewebe, durch eine pathologische Veränderung der Gewebsbestandteile oder durch Auflösung eines fremden, darin angesiedelten Elementes, wie im Falle der Infektionen, dargestellt wird. Die frühzeitige Bildung (schon am 6. Tage) des Milzpräzipitins beim Hunde mit akuter Chromatvergiftung kann ihre Erklärung darin finden, daß es sich um einen Antikörper gegen ein für den Organismus neues Prinzip handelte, welcher durch Veränderung der Nierenbestandteile unter der Wirkung des Bichromats zu stande kam. Eine ähnliche Erklärung kann man vielleicht anführen für das am 14. und 21. Tage im Diphtheriehund gefundene Präzipitin, wo es bloß gegen die am meisten affizierten Organe, Niere und Nebenniere, und nicht gegen die übrigen wirksam auftrat.

Als andere Möglichkeit muß man sich gegenwärtig halten, daß der Krankheitsprozeß von solcher Natur sei, daß er die Resorption von ausreichenden Mengen des erkrankten Organs nicht befördere, oder daß die Resorption nicht mehr in einer, den Organismus zur Bildung eines präzipitierenden Antikörpers erregenden Form geschehe. Zu diesen Fällen gehören aller Wahrscheinlichkeit nach die Tumoren, wo die Proben, die ich in gewisser Anzahl zwischen Tumorenextrakt und Blut desselben Individuums angestellt habe, nicht günstig für die Gegenwart von Cytopräzipitinen ausgefallen sind.

Daß das Gewebe in zur Präzipitinentwicklung unfähiger Form resorbiert werden kann, kann man schon aus dem schließen, was in dieser Beziehung für die Blutbestandteile bekannt ist, wo es sich gezeigt hat, daß das zum Hervorrufen der Präzipitine geeignete Element dem Serumglobulin entspricht, während das Albumin desselben Serums sich dazu unfähig erwiesen hat.

Eine in dieser Hinsicht sehr bemerkenswerte Tatsache beobachtet man, wenn man das Verhalten der präzipitablen Cytosubstanz in den der aseptischen Autolyse unterworfenen Gewebestücken verfolgt, welche die nächste Form der Resorption der abgestorbenen Gewebe im Organismus darstellt. Ich habe gefunden, daß eine normale Kanincheniere, welche im frischen Zustand mit dem Serum des Mischintoxikationshundes die charakteristische Reaktion zeigte, nach einem Aufenthalt von drei und

sieben Tagen im Ofen jede Wirksamkeit verloren zu haben schien. Die inneren Enzyme der Zellen scheinen also im stande zu sein, in dem veränderten Organe in loco die Bestandteile so weit zu zersetzen, daß sie nach ihrer Resorption die Fähigkeit, die Bildung von Antikörpern anzuregen, verlieren. Man muß aber hier nicht eine andere Erklärung ausschließen, daß an dieser Erscheinung antipräzipitierende Prinzipie teilnehmen können, welche während der Autolyse sich entwickelt haben, wie unter denselben Bedingungen antikoagulierende Prinzipie (Conradi) zu stande kommen.

b) Die Möglichkeit, daß im Inneren des Organismus das Cytopräzipitin und die ausfällbare Cytosubstanz sich begegnen und sich gegenseitig vernichten, ist vielleicht einer der wichtigsten Gründe des Mißerfolgs bei den Untersuchungen. Solange das Cytopräzipitin allein und in den Gefäßen eingeschlossen ist, ist sein Kreislauf im freien Zustande wie beim Fibrinogen gesichert; nach den experimentellen Ergebnissen müssen wir aber annehmen, daß es auch im Organismus präzipitieren muß, wenn in dem Kreislauf weitere Produkte der Histolyse zerfließen, oder wenn das Blut veränderte Gewebe direkt befeuchtet, oder wenn starke Verdünnungen des Blutes in Form akuter Hydrämieen hinzukommen. Gewiß ist es jetzt notwendig, von pathologisch-anatomischer und chemischer Seite den Charakter der Gerinnsel zu untersuchen, welche in den Gefäßen und Geweben bei den verschiedenen pathologischen Zuständen auftreten.

Ein überschüssiges Eindringen von histolytischen Produkten in den Kreislauf muß die Nachprüfung von Cytopräzipitin fortwährend negativ erhalten, und so dürfte der Fall beim obenerwähnten Chromathunde gelegen haben, da sie bis zum 54. Tage negativ blieb. Daß das Serum dieser Probe präzipitable Cytosubstanz der Gewebe enthielt, nicht nur um das event. Cytopräzipitin zu neutralisieren, sondern auch im Ueberschuß, ergibt sich aus der Tatsache, daß dasselbe im frischen Zustand, wo die normalen Sera keinen Niederschlag geben, mit dem Präzipitin enthaltenden Mischintoxikationsserum gemischt, eine Fällung hervorruft, als ob man einfaches Gewebeextrakt hinzugesetzt hätte.

Daß dann im Organismus die Neutralisierung eines schon gebildeten Präzipitins stattfinden kann, dafür kann man ein Beispiel im Diphtheriehunde finden, welcher, während er am 14. und 21. Tage Cytopräzipitin aufgewiesen hatte, beim Tode ein Serum ohne erhebliche Eigenschaften lieferte. Dieser Hund hatte kein Toxin mehr in der letzten Zeit bekommen, die Wirkung aber des schon vorher erhaltenen Toxins hielt noch an, was sich durch das Fortschreiten nicht nur der Lähmung, sondern auch der Histolyse in Form äußerster Abmagerung zeigte.

(Schluß folgt.)

Uebergänge, keine schroffen Unterschiede zwischen immunen und empfänglichen Tieren bestehen ¹⁾).

Weitere Aufschlüsse konnte nur die Untersuchung von Tieren geben, die bereits unter dem Einflusse der Milzbrandinfektion stehen, bei denen also zu erwarten war, daß die nach den mitgeteilten Organversuchen mögliche Aktivierung bakterizider Wirkungen bereits erfolgt sei. Vorher seien aber noch einige Versuche mitgeteilt, welche bezweckten, festzustellen, ob beim Huhne der Immunkörper oder das aus dem Knochenmarke stammende Komplement durch Immunkörper anderer Tierarten ersetzt werden könne.

Kaninchenserum und Ziegenserum für sich allein und mit Kaninchenserum aktiviert, zeigte bei Gegenwart von Leber, Milz, Niere, Sperma fortschreitendes Wachstum, die den obigen Proben entsprechenden Kochsalzkontrollen zeigten bei Anwesenheit von Hühnerknochenmark deutliche Entwicklungshemmung.

Tabelle XII.

Serum und Organe zweier Hennen gemischt. Als fremde Komplemente dienen Kaninchenserum und Kaninchenleukocyten, als Immunkörper Ochsen- und Schweineserum. Aufgenommen sind nur jene Proben, in denen Entwicklungshemmung oder Abtötung eintrat. 41°. Keine Probe zentrifugiert.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hühnerserum		ca. 10 000
2)	1 " " + Knochenmark		0
3)	1 " " + " + Leber		54
4)	1 " " + " + Milz		0
5)	1 " " + " + Niere		768
6)	1 " " + " + Hirn		0
7)	1 " " + " + Muskel		0
8)	1 " Ochsenserum		2896
9)	1 " " + Knochenmark		0
10)	1 " " + " + Leber		11
11)	1 " " + " + Niere		1168
12)	1 " " + " + Hirn		0
13)	1 " " + " + Muskel		119
14)	1 " Schweineserum		ca. 10 000
15)	1 " " + Knochenmark		9
16)	1 " " + " + Leber		104
17)	1 " " + " + Niere		512
18)	1 " " + " + Muskel		13
19)	1 " Hühnerserum + 0,05 ccm Kaninchenser.		0
20)	1 " " + 0,05 " " + Leber		ca. 10 000
21)	1 " " + 0,05 " " + Milz		4416
22)	1 " " + 0,05 " " + Niere		} ca. 10 000
23)	1 " " + 0,05 " " + Muskel		
24)	1 " " + Kaninchenleukocyten		0
25)	1 " " + " + Leber		592
26)	1 " " + " + Milz		53
27)	1 " " + " + Niere		1712
28)	1 " " + " + Muskel		392

Leber, Milz, Niere, Hirn, Muskel, allein den verschiedenen Seris zugesetzt, ergaben überall Wachstum. Die NaCl-Kontrollen mit Knochenmark zeigten starke Entwicklungshemmung, eine geringe die mit Kaninchenleukocyten. 0,05 ccm Kaninchenserum, zu je 1 ccm NaCl-Lösung und Organen zugesetzt, lieferte überall 8—10 000 Kolonien.

Die Versuche würden den Schluß zulassen, daß der Immunkörper des Hühnerserums mehr oder minder gut durch den des Ochsen-

1) Vergl. die Bemerkung über die absorbierende Wirkung des Knochenmarkes auf Serum im VII. Abschnitte dieser Untersuchungen.

Ziegen- und Schweineserums zu ersetzen ist, nicht aber oder nur sehr schlecht durch den des Kaninchenserums. In keinem Falle ist die milzbrandtötende Wirkung, die in sonst tadelloser Weise bei Zusatz von Kaninchenserum zu Hühnerblut auftritt, der durch Knochenmark erzeugten gleichwertig, während Kaninchenleukocyten etwas bessere Resultate liefern. Solche Versuche erbringen aufs neue den Beweis dafür, wie verschiedenartig eine in ihren Resultaten scheinbar gleichwertige Bakteriolyse ihrem inneren Wesen nach sein kann und wie verfehlte Schlüsse aus den üblichen beschränkten Untersuchungsmethoden gezogen werden könnten. Man wird solche und ähnliche Verhältnisse in Zukunft berücksichtigen müssen.

Das Hauptinteresse beanspruchten nunmehr die Verhältnisse des infizierten Tieres. Denn der im Laboratoriumsversuche künstlich und gewaltsam hervorgerufene Mechanismus der Milzbrandabtötung im Hühnerorganismus muß beim Drohen der Infektionsverallgemeinerung in irgend einer Form greifbar werden können. Mit anderen Worten: die normalerweise dem Huhne fehlende Bakterizidie muß nach erfolgter Infektion auch ohne alle gewaltsamen Mittel nachweisbar sein.

Die Versuche geschahen in der Weise, daß die Hühner große Milzbrandmengen, mindestens 1 Oese Agarkultur, intravenös erhielten und nach verschiedenen Zeiten verblutet wurden. Da es von vornherein klar war, daß eine Uebersicht nur bei vergleichenden Untersuchungen an empfänglichen Tieren zu erlangen sei, so wurden auch bei Meerschweinchen und Kaninchen in ähnlicher Weise Versuche angestellt. Die Details ergeben sich aus den Bemerkungen, die den Tabellen vorangehen.

Schon der erste Versuch lieferte beachtenswerte Ergebnisse.

Tabelle XIII.

Einer großen Henne wird aus der Flügelvene etwas Blut entzogen (Serum A) und sodann intravenös 1 Oese Agarkultur injiziert. 24 Stunden später wird sie verblutet (Serum B). Bei der Herausnahme der Organe auf Schrägagar angelegte Kulturen lassen nur aus der Leber 9, aus der etwas angeschwollenen Milz 2 Kolonien von Milzbrand aufgehen. Organversuche in der üblichen Weise mit Einsaat von Bouillonkultur. 41°.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hühnerserum A	1168	über 5000
2)	1 " " B	3136	2916
3)	1 " " " + Leber	3376	5000
4)	1 " " " + Milz	3744	51
5)	1 " " " + Niere	3232	5000
6)	1 " " " + Muskel	3568	5000
7)	1 " " " + Knochenmark	2704	6
8)	1 " " " + Leber	wenig	2544
9)	1 " " " + Milz	über	67
10)	1 " " " + Niere	3000	504
11)	1 " " " + Muskel	2098	1584

Die Kochsalzkontrollen zeigten bei Knochenmark allein 1312, sonst 4—5000 Kolonien.

Auf den ersten Blick hin fällt schon auf, daß trotz sehr hoher Bacillennengen eine eigentliche Vermehrung gar nicht stattgefunden hatte. Ja, Milz und (wie immer) Knochenmark zeigten beträchtliche Abtötung. Am auffälligsten war das Verhalten des Serums. Denn eine so deutliche Entwicklungshemmung war bei Versuchen an etwa 40 Hühnern niemals vorgekommen. Um einen etwaigen Irrtum ausschließen zu können, wurden die am nächsten Tage aus dem auf Eis aufbewahrten Blutkuchen noch ausgeschiedenen 2 ccm Serum bei kleiner Aussaat

neuerlich untersucht. Das Resultat war, daß tatsächlich das Serum bakterizide Wirkungen erhalten hatte, die, ganz wie die aus dem Knochenmarke stammenden, bei der üblichen Inaktivierungstemperatur verloren gehen.

Tabelle XIV.

Bei 41°.

	Sofort	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 3 Std.	Nach 4 Std.
1) 1 ccm Serum aktiv	336	33	10	4	1
2) 1 „ „ 1/4 Std. 58°	264	188	328	912	1344

Von größter Wichtigkeit ist es, solche Versuche ohne neue Einsaat künstlich gezüchteter Bacillen anzustellen, also die Organe mit ihrem noch von der Infektion herstammenden Bacillengehalte zu untersuchen. Dabei sind die Verhältnisse wenigstens einigermaßen denen im Tierkörper vergleichbar, es wird gewissermaßen die Infektion außerhalb des Organismus fortgesetzt. Bei dem Huhne der Tabelle XIII waren leider nur wenige Proben in dieser Weise angelegt worden, die aber doch zeigen, wie die noch im Tierkörper lebend erhaltenen Bacillen einer fortschreitenden Vernichtung anheimfallen.

Tabelle XV.

Organe des Huhnes der Tabelle XIII mit je 1 ccm Serum ohne Bacilleneinsaat untersucht. 41°.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum + Leber	340	196
2) 1 „ „ + Knochenmark	3	0
3) 1 „ „ + „ + Leber	500	94

Tabelle XVI.

Großer Hahn mit 3 Oesen Agarkultur intravenös infiziert. Nach 16 Stunden wurde Blut aus einer Halsvene entnommen, Serum A, nach 22 Stunden das Tier ganz verblutet; bei der Herausnahme der Organe angelegte Kulturen auf Schrägagar ergaben aus der Leber und der geschwellenen Milz ziemlich reichliche, aus der Niere spärliche, aus dem Blute keine Kolonien. Der Versuch wurde ohne eigene Einsaat von Kultur angestellt. 41°.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum A	0	0
2) 1 „ „ + Leber	10 239	3504
3) 1 „ „ + Milz	2 720	896
4) 1 „ „ + Niere	2432 ¹⁾	712
5) 1 „ „ + Sperma	0	0
6) 1 „ „ + Knochenmark	112	48
7) 1 „ „ B	0	0
8) 1 „ „ + Leber	6 576	2256
9) 1 „ „ + Milz	3 648	760
10) 1 „ „ + Niere	19	8
11) 1 „ „ + Sperma	0	0
12) 1 „ „ + Muskel	0	0
13) 1 „ „ + Knochenmark	59	8
14) 1 „ „ + „ + Leber	10 684	3094
15) 1 „ „ + „ + Milz	2 912	776
16) 1 „ „ + „ + Niere	128	15
17) 1 „ „ + „ + Sperma	80	42
18) 1 „ „ + „ + Muskel	116	23

Auch die Kontrollen, in denen die Organe mit NaCl-Lösung und diese mit Knochenmark suspendiert waren, lieferten Zahlen, die mit denen der Serumproben fast völlig übereinstimmten. Es hatte überall Abtötung stattgefunden.

1) Die hohe Bakterienzahl dieser Probe ist unverstänlich, da sonst übereinstimmend die Niere nur eine recht geringe Keimzahl aufwies.

Solche Versuche erklären das Nichtzustandekommen der Milzbrandinfektion beim Huhne vollständig. Unter dem Einflusse der injizierten Bacillen werden milzbrandtötende Kräfte im Organismus aktiviert, die sonst nicht oder nur andeutungsweise vorhanden sind. Es ist nicht mehr, wie beim normalen Huhne, notwendig, Knochenmark, Serum und Organe zu mischen, jedes Organ wirkt meist schon für sich allein, wie die Kontrollen mit in NaCl-Lösung aufgeschwemmten Zellen zeigen, nur mit dem geringen Blutgehalte, der ihnen noch anhaftet. Der ganze Organismus hat eine tiefgreifende Umwandlung erfahren, die ein Weitergreifen der Infektion unmöglich macht. In diesem Falle dürfen wohl die sprechenden Resultate des Laboratoriumsversuches auf die Verhältnisse des lebenden Tieres übertragen werden.

Woher die milzbrandtötenden Eigenschaften des infizierten Hühnerorganismus auf einmal kommen, dürfte mit Sicherheit schwer zu entscheiden sein. Es spricht nach den Versuchen am normalen Huhne vieles für das Knochenmark als ihrer Ursprungsstelle. Von einiger Wichtigkeit scheint aber das zwar nicht in diesem, aber in anderen Versuchen, z. B. dem der Tabelle XIII, auffällig starke Abtötungsvermögen der Milz zu sein, von dem noch später zu sprechen sein wird.

Das Serum des Hahnes der Tabelle XVI zeigte bei künstlicher Einsaat für sich allein stark abtötende Wirkungen, selbst bei hoher Einsaat; durch Zusatz der Organzellen des gleichen Huhnes und Knochenmarkes veränderte sich nur wenig.

Tabelle XVII.

Serum und Organe des Hahnes der Tabelle XVI. Einsaat von Bouillonkultur.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum B {	1458	10
	4352	120
2) 1 " " " + Knochenmark	1424	3
3) 1 " " " + " + Milz	2032	78
4) 1 " " " + " + Niere	2336	92
5) 1 " " " + " + Hoden	1384	116
6) 1 " " " + " + Muskel	1536	4

Ganz unzweideutig deckt sich der Befund dieser Versuche am Huhne mit dem ganz analogen, den Denys und Kaisin gelegentlich beim Hunde machten, der aber von späteren Untersuchern nicht in gleicher Weise erhoben werden konnte¹⁾. Die Gründe hierfür anzugeben, wird später versucht werden.

Was das Verhalten milzbrandinfizierter empfänglicher Tiere betrifft, so liegen darüber bereits jene Beobachtungen am Kaninchen vor, welche die bakterizide Kraft des Serums auch nach bereits ausgebrochener Krankheit unverändert fanden. Daß das Serum von Milzbrandkaninchen, die bereits Bacillen im Blute haben, noch so wie normales Hundeserum zu ergänzen vermag, wurde bereits mitgeteilt²⁾. Wenn wirklich, wie im VII. Abschnitte dieser Untersuchungen zu zeigen versucht wurde, die im extravaskulären Experimente wirksamen Immunkörper und Komplemente des Blutes im Tiere selbst gar nicht an die Milzbrandbacillen herantreten können, so war zu erwarten, daß das hochgradig infizierte Tier sich vom normalen nicht unterscheidet. Es mußte das Serum wirk-

1) Denys und Kaisin, La Cellule. T. X. 1893. Vgl. über diese Forschungen Metschnikoff, L'Immunité. p. 160.

2) Vgl. den I. Abschnitt dieser Untersuchungen, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. p. 348.

sam bleiben, ebenso mußten die Organe genau wie vor der Infektion Immunkörper eines normalen Kaninchensersums binden, ohne die Komplemente wesentlich zu vermindern. Für letzteren Punkt ist am überzeugendsten das Verhalten von Tieren, die der Infektion bereits erlegen sind.

Tabelle XVIII.

Großes Kaninchen hatte vor 48 Stunden 3 ccm Bouillonkultur intrapleurale erhalten und sollte verblutet werden; es starb aber noch unmittelbar vor Einleitung der Operation. In der Pleura fanden sich ca. 5 ccm stark roten Exsudates, die völlig klar zentrifugiert wurden. Die Organe wurden zerrieben, durch Drahtnetze gepreßt und in der üblichen Weise mit normalem Kaninchenserum versetzt. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° wurde sorgfältig zentrifugiert und die abgessene Flüssigkeit verwendet. Nur die Proben mit Knochenmark wurden als solche, ohne Zentrifugieren, verwendet. Einsaat in alle Proben.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Normalkaninchenserum	1208	0
2) 1 " " mit Leber behandelt	1952	} ca. 10 000
3) 1 " " " Milz "	1648	
4) 1 " " " Niere "	2517	
5) 1 " Ochsen Serum	1256	
6) 1 " " + 0,05 ccm Normalkaninchenserum	1136	0
7) 1 " " + 0,05 " des m. No. 2 bezeichnet. Ser.	1096	0
8) 1 " " + 0,05 " " " " 3 " "	1702	0
9) 1 " " + 0,05 " " " " 4 " "	1520	0
10) 1 " Normalkaninchenserum mit Knochenmark	2724	über 10 000
11) 1 " " " " + Leber	∞	∞
12) 1 " " " " + Milz	∞	∞
13) 1 " " " " + Niere	∞	∞

Ochsen Serum und NaCl-Lösung, genau in gleicher Weise behandelt, ergaben ungestörte Entwicklung.

Die Organe des milzbrandigen Kaninchens verhielten sich genau so wie die des normalen. Von großem Interesse ist aber das Verhalten der zellfreien Exsudatflüssigkeit und des aus dem subkutanen Oedem ausgepreßten, gleichfalls sorgfältig zentrifugierten Saftes¹⁾.

Tabelle XIX.

Zum Versuche wurde außer Ochsen Serum (s. Tabelle XVIII) noch Schaf-, Schweine- und Hundeserum verwendet. Einsaat in alle Proben.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Schafserum	} 928	} 8—10 000
2) 1 " Schweineserum		
3) 1 " Hundeserum		
4) 1 " Exsudatflüssigkeit	1136	11 232
5) 1 " Ochsen Serum + 0,1 ccm Exsudatflüssigkeit	} 1056	0
6) 1 " Schafserum + 0,1 " "		0
7) 1 " Schweineserum + 0,1 " "		0
8) 1 " Hundeserum + 0,1 " "		3
9) 1 " Oedemflüssigkeit	16 200	∞
10) 1 " Ochsen Serum + 0,1 ccm Oedemflüssigkeit	} 1088	1
11) 1 " Schafserum + 0,1 " "		584
12) 1 " Hundeserum + 0,1 " "		1488

Es war also in diesem Versuche die bereits im II. und IV. Abschnitt erwähnte Fähigkeit der Milz und des Knochenmarkes normaler Kaninchen, fremde Sera aktiv zu machen, auch im milzbrandigen Tiere erhalten geblieben.

Untersucht man Kaninchen kürzere Zeit nach intravenöser Milzbrandeinspritzung, so findet man Verhältnisse, die in gewissem Grade

1) Zusatz zur Korrektur. Die auch in anderer Beziehung merkwürdigen Eigenschaften des Oedems werden den Inhalt eines in Kürze fertig zu stellenden X. Abschnittes dieser Untersuchungen bilden.

Tabelle XX.

Kaninchen hatte intrapleural 1 Oese Agarkultur in ca. 3 ccm Bouillonkultur erhalten; es starb nach 24 Stunden verblutet werden, starb aber schon nach etwa 22 Stunden. Rechts ca. 5, links ca. 4 ccm Exsudat, das rechte mit zahlreichen Bacillen in der später zu erwähnenden Anordnung, das linke viel bacillenärmer. Beide werden klar zentrifugiert, ebenso die aus dem vom Stichkanale ausgehenden mäßig starken Oedem ausgepresste Flüssigkeit. Milz und Knochenmark des Tieres werden mit Ziegenserum und NaCl-Lösung zerrieben, 1 Stunde bei 37° belassen, dann sorgfältig zentrifugiert. Ueberall Einsaat.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Ziegenserum	1264	über 8000
2) 1 " " + 0,1 ccm Oedem	1552	2
3) 1 " " + 0,05 " "	1760	7
4) 1 " Oedem	1680	über 5000
5) 1 " Ziegenserum + 0,1 ccm rechtes Exsudat	1424	0
6) 1 " " + 0,05 " " "	1280	0
7) 1 " rechtes Exsudat	1632	über 5000
8) 1 " Ziegenserum + 0,1 ccm linkes Exsudat	1328	0
9) 1 " " + 0,05 " " "	976	0
10) 1 " linkes Exsudat	1488	1904
11) 1 " NaCl	976	832
12) 1 " " + 0,1 ccm Oedem	1056	} ca. 5000
13) 1 " " + 0,1 " rechtes Exsudat	1120	
14) 1 " " + 0,1 " linkes "	864	
15) 1 " Ziegenserum mit Milz behandelt	1784	896
16) 1 " NaCl	2000	ca. 8000
17) 1 " Ziegenserum " Knochenmark behandelt	2448	1632
18) 1 " NaCl " " "	2752	ca. 8000

an diejenigen erinnern, die für das natürlich immune Huhn als gültig gefunden wurden. Man sieht zwar meist eine sofortige Entwicklung der noch in den Organen befindlichen Bacillen eintreten, sobald diese in der gewöhnlichen Weise mit Serum gemischt werden; aber dieselbe ist doch nicht so stark, als man sie sonst zu finden gewohnt ist. Ueberdies tritt bei Tieren, die etwa 3 Stunden nach intravenöser Infektion untersucht werden, ein gewisser Einfluß des Knochenmarkes öfters unzweideutig hervor. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man hierin einen Abwehrversuch des Kaninchenorganismus erblickt, der auf Grund desselben Mechanismus arbeitet wie beim Huhne, wenn auch nur mit ungenügendem Erfolge.

Tabelle XXI.

Kaninchen, welches 16 Stunden nach intravenöser Einspritzung von 1 Oese Agarkultur verblutet wurde. Die Organe wiesen makroskopisch keine Veränderungen auf; mikroskopisch fanden sich Bacillen in der Milz sehr zahlreich, spärlich in der Leber, keine in Drüse, Niere Knochenmark und Muskel. Daß sie trotzdem vorhanden waren, zeigen die Versuche, bei denen die Organe zerrieben und mit dem Serum gemischt wurden.

Sofort nach dem Zusatze des Serums wurde der Versuch ohne neuerliche Einsaat begonnen.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum	0	0
2) 1 " " + Leber	ca. 3000	3232
3) 1 " " + Milz	∞	∞
4) 1 " " + Niere	418	2096
5) 1 " " + Drüse (Pankreas Aselli)	576	ca. 8000
6) 1 " " + Muskel	0	0
7) 1 " " + Knochenmark	1024	2096
8) 1 " " + " + Leber	2504	4728
9) 1 " " + " + Milz	∞	∞
10) 1 " " + " + Niere	1312	3872
11) 1 " " + " + Drüse	920	ca. 8000
12) 1 " " + " + Muskel	760	2928

Das Serum tötete künstlich eingesäte 2000 Bacillen nach 4 Stunden vollständig ab.

Tabelle XXII.

Kaninchen erhält $\frac{1}{2}$ Oese Agarkultur intravenös und wird 3 Stunden später verblutet. Keine sichtbare Organveränderung. In der Milz und Leber reichliche, in der Niere sehr spärliche Bacillen, zum Teil schlecht gefärbt und kolbig aufgetrieben. Keine Einsaat.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 cem Serum	0	0
2) 1 " " + Leber	2496	1616
2) 1 " " + Milz	1264	3344
4) 1 " " + Niere	43	328
5) 1 " " + Drüse	5	132
6) 1 " " + Muskel	0	0
7) 1 " " + Knochenmark	128	7
8) 1 " " + " + Leber	5948	3936
9) 1 " " + " + Milz	1696	784
10) 1 " " + " + Niere	204	73
11) 1 " " + " + Drüse	84	80
12) 1 " " + " + Muskel	132	53

Zu diesen Versuchen muß noch Einiges bemerkt werden. Es war regelmäßig zu konstatieren, daß die erstere größere Vermehrung innerhalb des Kaninchenkörpers in der Milz erfolgen müsse. Ob das seine Ursache in den besonderen Verhältnissen der Blutverteilung in diesem Organe hat, die bei den vermutlichen offenen Bahnen einen besonders starken Verbrauch an Serumimmunkörpern durch die Milzzellen bedingen, mag dahingestellt bleiben, ist aber nicht unwahrscheinlich. Denn dann müßte gerade in der Milz jede Belästigung der Bacillen durch das Serum ausbleiben. Demgegenüber sei auf die Hühnerversuche hingewiesen, welche in der Regel, wenn auch nicht ausnahmslos, gerade in der Milz das schnellste Absterben der injizierten Bakterien erkennen ließen.

Der letzte Versuch in Tabelle XXII beweist weiter, daß in dem Zeitraume von 3 Stunden, welcher zwischen intravenöser Infektion und Organentnahme verfloß, eine nicht geringe Menge von Bacillen abgestorben sein muß. Dafür spricht sowohl das Mißverhältnis in der Zahl der in mikroskopischen Präparaten von Milz und Leber sichtbaren Bacillen und der relativ geringen Menge der Plattenkolonien, wie auch das offenbar degenerierte Aussehen der Stäbchen. Die Ursache des Absterbens wird in den bereits früher gekennzeichneten (VII. Abschnitt) besonderen Verhältnissen innerhalb der größeren Blutbahnen zu suchen sein. Denn jeder, der mit Milzbrand- und Kaninchenserum gearbeitet hat, wird wohl die Beobachtung gemacht haben, daß ein oft geradezu „blitzartiges“ Absterben der in reines Kaninchenserum eingebrachten Bacillen erfolgt, so daß die Feststellung der Aussaatgröße ihre Schwierigkeiten haben kann. Solche schnellstens abgetötete Bacillen werden naturgemäß auch in die Organe mitgeschleppt, wo sie das Mikroskop mit allen Anzeichen der Degeneration auffindet. Die Infektion geht aber von den vielleicht nur vereinzelt Bacillen aus, die noch lebend in den Organen abgelagert werden und hier vor weiterer Gefährdung durch das Serum geschützt sind.

Was die Verhältnisse bei intrapleuraler und subkutaner Impfung betrifft, so sind hierfür die aus den Tabellen XIX und XX klar hervorgehenden Eigenschaften der Exsudat- und Oedemflüssigkeiten von größter Wichtigkeit. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß ihnen der Immunkörper bei Erhaltung der Komplemente verloren gegangen ist. Die Erklärung läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit dahin geben, daß die in die Injektionsstelle eintretenden Körperflüssigkeiten vermutlich schon arm an Immunkörpern waren, die noch vorhandenen aber an die reich-

lich wuchernden Bacillen abgegeben haben. Die Komplemente traten aber ebensowenig an die Immunkörper heran, wie dies bei den Organversuchen im VII. Abschnitte der Fall war.

Versuche, das Verhalten von subkutanen, sterilen Oedemflüssigkeiten, erzeugt durch Stauungen, zu studieren, hatten keinen rechten Erfolg, weil es nicht gelang, solche ohne erhebliche Blutbeimengungen zu erhalten. Der Komplementgehalt derselben war ungefähr dem des Serums gleich, aber die eigene Bakterizidie dieser Flüssigkeiten war auch nur wenig schwächer als die des Serums.

Tabelle XXIII.

Einem großen Kaninchen wird der Oberschenkel mit einem elastischen Schlauche umschnürt. Nach 6 Stunden wurde der Schlauch gelöst, ohne daß ein besonderes Oedem vorhanden gewesen wäre. Dieses zeigt sich erst am nächsten Morgen und besteht auch noch am übernächsten Tage. Es wird (24 und 48 Stunden nach Abschnürung der Extremität) je etwa 2 ccm der angesammelten, stark roten, leicht gerinnenden Flüssigkeit entnommen (Oedem A und B). Beim Zentrifugieren entsteht ein reicher Satz von roten und sehr spärlichen weißen Blutkörperchen. Jedesmal war auch eine Blutprobe aus der Halsvene entnommen worden (Serum A und B). Als Immunkörper diente Ziegen Serum.

	Sofort	Nach 4 Stdn
1) 1 ccm Kaninchenserum A	} Mittel 1186 i.	0
2) 1 „ Ziegen Serum + 0,05 ccm Serum A		1
3) 1 „ Oedemflüssigkeit		32
4) 1 „ Ziegen Serum + 0,1 ccm Oedem A		0
5) 1 „ „ + 0,05 „ „		23
6) 1 „ „		über 8000
7) 1 „ Kaninchenserum B	} Mittel im 882	0
8) 1 „ Ziegen Serum + 0,1 ccm Serum B		0
9) 1 „ „ + 0,05 „ „		0
10) 1 „ Oedemflüssigkeit B		37
11) 1 „ Ziegen Serum + 0,1 ccm Oedem B		0
12) 1 „ „ + 0,05 „ „		14
13) 1 „ „		über 5000

Eine kurze Bemerkung über die eigenartige Beschaffenheit der durch intrapleurale Milzbrandimpfung entstehenden Exsudate beim Kaninchen und auch beim Meerschweinchen sei hier eingeschaltet. Die Bacillen finden sich in diesen in der Regel in langen, aneinanderliegenden Fäden, die, vielleicht durch Gerinnungserscheinungen zusammengehalten, als grobe, fädige, schwer zerteilbare Flocken bereits mit freiem Auge sichtbar sind. Beim Zentrifugieren eines solchen Exsudates erhält man dann oft 3 Schichten, deren unterste aus weißen und roten Blutkörperchen und Endothelien besteht, während zwischen ihr und der klaren Flüssigkeit die graue Schicht der langen Milzbrandfäden liegt¹⁾.

Untersucht man die Organe von Meerschweinchen, die der Infektion mit Milzbrand bereits erlegen sind, zusammen mit Serum normaler Tiere, so findet stärkste Vermehrung statt (s. Tab. XXIV.)

Bei Meerschweinchen, die zu einer Zeit nach der Infektion verblutet werden, wo sie äußerlich noch keine Krankheitserscheinungen zeigen, tritt wieder eine gewisse Bedeutung des Knochenmarkes, die sich übr-

1) Bei Versuchen aus dem Jahre 1898 hatte der eine von uns (Bail) dieses Exsudat von Kaninchen zu Kaninchen intrapleurale übertragen. Dabei wurde in den ersten Uebertragungen der Befund der oben erwähnten Anhäufungen von Milzbrandfäden immer reichlicher. Die Tiere der späteren Passagen lebten immer länger und die Impfung einmal des 15., das andere Mal des 21. Kaninchens blieb ergebnislos. Weitere Serienimpfungen, als diese beiden, gelangen nicht, anscheinend weil immer eine Infektion von der Hautstichwunde ausging. Wegen des enormen Tierverbrauches wurden Versuche in dieser Richtung nicht mehr aufgenommen, doch wäre es von Interesse, nachzuprüfen, ob hier nur ein Zufall mitgespielt hat.

Tabelle XXIV.

Großes Meerschweinchen, intrapleurale infiziert. Die Organe des nach etwa 22 Stunden gestorbenen Tieres werden mit normalem Meerschweinchenserum gemischt. Nur in die Probe 1 erfolgt Einsaat.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm normal. Meerschw.-Serum	960	3172
2) 1 " " " + Leber	sehr viele	∞
3) 1 " " " + Milz	" 2288 "	∞
4) 1 " " " + Knochenmark	" 2288 "	über 10 000
5) 1 " " " + " + Leber	sehr viele	∞
6) 1 " " " + " + Milz	" "	∞

gens auch bei bereits gestorbenen Tieren in der relativ geringen Bakterienzahl daselbst erkennen läßt, hervor.

Tabelle XXV.

Großes Meerschweinchen, 16 Stunden nach intrapleuraler Infektion mit 1 ccm Bouillonkultur, bei noch vollem Muntersein verblutet. In der Pleura ca. 3 ccm Exsudat, stark rot, mit dem oben erwähnten Bacillenbefunde. Die Milz ist nicht sichtlich geschwollen und enthält mikroskopisch ziemlich reichliche Bacillen. Spärlicher wurden diese in der Leber, nicht in Niere und Knochenmark, gefunden. Keine Einsaat.

	Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 6 Stdn.
1) 1 ccm Serum	0	0	0
2) 1 " " + Leber	3264	ca. 4000	} über 10 000
3) 1 " " + Milz	5152	über 5000	
4) 1 " " + Niere	1136	1408	über 8000
5) 1 " " + Knochenmark	96	21	184
6) 1 " " + " + Leber	3472	} über 5000	} über 10 000
7) 1 " " + " + Milz	6592		
8) 1 " " + " + Niere	1120	992	
9) 1 " " Exsudatflüssigkeit	1952	ca. 3000	

Von anderen Tieren, deren natürliche Immunität aber mit Recht angezweifelt werden kann, wurden noch Ratten und Hunde in wenigen Versuchen herangezogen und in normalem Zustande, ohne Infektion, untersucht. Die bakterizide Wirkung des Rattenserums wurde durch die Organe oft nicht vollständig aufgehoben, jedenfalls wirkte das Knochenmark stets nur schwach aufhebend oder überhaupt nicht.

Tabelle XXVI.

Große, weiße Ratte. Organbrei je 1 ccm Serum zugesetzt, nicht zentrifugiert.

	Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 6 Stdn.
1) 1 ccm Serum	im Mittel	2	0
2) 1 " " + Knochenmark		1	0
3) 1 " " + Milz		624	1416
4) 1 " " + Leber	1408	1408	4248

In NaCl-Lösung mit den Organen fand ungehemmtes Wachstum statt.

Bei Versuchen der Mischung von Serum, Knochenmark und Organen tritt der gleiche Abtötungsmechanismus wie beim Huhne meist deutlich hervor. Doch lassen sich solche Versuche nur bei Mischung der Sera mehrerer Tiere und auch da nur mit geringen Serumquantitäten durchführen und sind deshalb nicht ganz einwandfrei (s. Tab. XXVII).

In NaCl-Lösung nach 6 Stunden überall 3–8000 Kolonien.

Hunde zeigen, soweit dies untersucht wurde, große Verschiedenheiten in ihrem Verhalten. Bei den meisten, namentlich, wie es scheint, jüngeren Tieren hat der Zusatz von Organen zum Serum keinen Einfluß auf das ungestörte Milzbrandwachstum. Doch kommen Individuen vor, deren Verhalten dem der Hühner ganz gleichartig ist (s. Tab. XXVIII.)

Tabelle XXVII.

Serum und Organe zweier Ratten gemischt. Zur Anwendung gelangen für jede Probe nur 0,5 ccm Serum, dem je 3 Tropfen Organbrei zugesetzt werden. Keine Probe wurde zentrifugiert.

	Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 6 Stdn.
1) 0,5 ccm Serum		1	0
2) 0,5 " " + Leber	1405 im Mittel	132	2432
3) 0,5 " " + Milz		76	189
4) 0,5 " " + Niere		264	344
5) 0,5 " " + Hoden		93	104
6) 0,5 " " + Knochenmark		0	0
7) 0,5 " " + " + Leber		160	120
8) 0,5 " " + " + Milz		39	19
9) 0,5 " " + " + Niere		112	42
10) 0,5 " " + " + Hoden		104	76

Tabelle XXVIII.

Hund, dessen vorgeschrittenes Alter an der trüben Linse kenntlich war, wurde 24 Stunden nach intrapleuraler Aleuronatinjektion verblutet. Das reichlich vorhandene Exsudat war relativ wenig leukocytenreich. Die daraus gewonnenen und gewaschenen Leukocyten wurden in 2 Teile geteilt und mit je 7 ccm Serum und NaCl-Lösung gemischt. Ebenso das Knochenmark. Keine Probe wurde zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum		5072
2) 1 " " + Leber	718 im Mittel	1136
3) 1 " " + Milz		4752
4) 1 " " + Niere		2704
5) 1 " " + Lymphdrüse		3776
6) 1 " " + Pankreas		2048
7) 1 " " + Hoden		3344
8) 1 " " + Knochenmark		152
9) 1 " " + " + Leber		47
10) 1 " " + " + Milz		192
11) 1 " " + " + Niere		172
12) 1 " " + " + Lymphdrüse		224
13) 1 " " + " + Pankreas		364
14) 1 " " + " + Hoden		308
15) 1 " " + Leukocyten		15
16) 1 " " + " + Leber		76
17) 1 " " + " + Milz		43
18) 1 " " + " + Niere		120
19) 1 " " + " + Lymphdrüse		116
20) 1 " " + " + Pankreas		592
21) 1 " " + " + Hoden		640

Mit 0,05 ccm Kaninchenserum aktiv gemachtes Serum verhielt sich den Organen gegenüber wie normales. NaCl-Lösung lieferte mit den Organen allein nach 4 Stunden ca. 3000 Kolonien, mit Knochenmark und Leukocyten und den Organen trat deutliche Entwicklungshemmung hervor.

Der Versuch verdient Beachtung, weil er geeignet ist, den vielumstrittenen, bereits oben zitierten Befund von Denys und Kaisin zu bestätigen. Denn nach allem, was bereits mitgeteilt wurde, ist man man wohl berechtigt, anzunehmen, daß ein solcher Hund, der sich ganz ähnlich wie das natürlich immune Huhn verhielt, so wie dieses nach erfolgter Infektion milzbrandtötende Fähigkeiten auch in seinem Blute entwickelt hätte. Der Umstand weiter, daß ein solches Verhalten bei den ohne Auswahl zum Versuche genommenen Hunden einen isolierten Fall darstellt, erklärt die negativen Resultate der späteren Nachprüfungen. Dazu kommt, daß sich auch beim Huhne eine bestimmte Angabe darüber, wann das Serum nach der Infektion milzbrandtötende Eigenschaften annimmt, nicht machen läßt. Dies beweist der folgende Versuch, der auch in anderer Hinsicht von Interesse ist.

Tabelle XXIX.

Ein großer Hahn erhält nach einer Blutentnahme aus der Flügelvene (Serum I) 3 Oesen Agarkultur intravenös. Nach 6, 24 und 32 Stunden wird neuerdings Blut entzogen (Serum II—IV) und nach 54 Stunden das Tier verblutet (Serum V). Die Organe wiesen makroskopisch keine Veränderung auf; aus 1 Oese Leber, Milz, Niere konnten bezw. 50, 19, 1 Kolonie von Milzbrand gewonnen werden. Die Organe wurden, zusammen mit Serum V, teils mit (B), teils ohne (A) Einsaat untersucht. In einer 3. Reihe (C) wurde das Serum mit den Organen zusammen 1 Stunde bei 42° gehalten, dann zentrifugiert und neuerdings besät. Versuch bei 41—42°.

A. Ohne eigene Einsaat		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Serum V	0	0
2)	1 " " " + Leber	1808	2048
3)	1 " " " + Milz	396	23
4)	1 " " " + Niere	4	3
5)	1 " " " + Knochenmark	15	0
6)	1 " " " + " + Leber	73!	8
7)	1 " " " + " + Milz	68	1
8)	1 " " " + " + Niere	14	0
B. Mit Einsaat von Bouillonkultur			
9)	1 ccm Serum I	1872	ca. 10 000
10)	1 " " II	704!	128
11)	1 " " III	1264	2800
12)	1 " " IV	1104	7936
13)	1 " " V	1136	704
14)	1 " " " + Leber	1888	2848
15)	1 " " " + Milz	1040	176
16)	1 " " " + Niere	1154	1328
17)	1 " " " + Knochenmark	448!	1
18)	1 " " " + " + Leber	1296	68
19)	1 " " " + " + Milz	960	4
20)	1 " " " + " + Niere	776	0
C. Zentrifugierte Proben mit eigener Einsaat			
21)	1 ccm Serum V mit Leber behandelt, dann zentrifugiert	872	} über 8000
22)	1 " " " " Milz " " "	936	
23)	1 " " " " Niere " " "	898	
24)	1 " " " " Knochenm. " " "	896	

Der Versuch zeigt zunächst wieder die unverkennbare Entwicklungshemmung oder Abtötung, welche das Serum mit den Organen zusammen ausübt und welche trotz neuerlicher Einsaat von Bacillen erhalten bleibt. Weiter zeigt er das ganz eigenartige Verhalten des Serums, das, anfänglich nicht bakterizid, 6 Stunden nach der Infektion wirksam wird, diese Wirkung nach 24 Stunden zum Teil, nach 32 Stunden gänzlich verloren hat, um sie nach 54 Stunden in geringerem Grade wiederzuerlangen. Die Erscheinung, daß 54 Stunden nach erfolgter Infektion noch lebende Bacillen im Huhne, das vollkommen gesund erschien, vorhanden waren, stimmt damit überein, ebenso die relativ große Zahl dieser Bacillen in der Leber mit dem geringen Abtötungsvermögen dieses Organes.

Der Zusatz von Knochenmark zum Serum verleiht der Mischung sofort hochgradige, trotz neuerlicher Einsaat hervortretende bakterizide Wirkungen, die, wie die Ausgangszahlen beweisen, sofort in Erscheinung treten können. Schließlich beweisen die Proben 21—24, daß die keimtötenden Eigenschaften, die nach 54 Stunden im Serum V aufgetreten waren, durch die Zellen der Organe absorbiert werden können, nur durch die des Knochenmarkes nicht.

Aus alledem läßt sich der Schluß ziehen, daß die Milzbrandtötung im Huhne vermitteltst eines aus dem Knochenmarke stammenden Komplementes erzielt wird; dasselbe wird aber nur langsam und allmählich

abgegeben, so daß ein Teil der injizierten Bacillen längere Zeit im Tiere am Leben bleiben kann. An sich ist das Komplement nicht etwa ein neugebildetes, nur für den Milzbrandbacillus bestimmtes, denn es wird in Verbindung mit dem zugehörigen Immunkörper von den Organen zu irgend einem noch unbekanntem Zwecke verbraucht. Nur der Umstand, daß die Affinität des durch das Komplement fertig gebildeten Bakteriolytins zum Milzbrandbacillus ungefähr ebenso groß ist wie die zu den Organzellen, ermöglicht die Abtötung der Keime auch im Inneren der Organe und scheint geeignet, die natürliche Immunität des Huhnes zu erklären.

Prag, am 15. Mai 1903.

Nachdruck verboten

The reactions of the blood in experimental diabetes mellitus. A contribution to our knowledge of the thermolabile complements. First contribution¹).

[From the Laboratory of Hygiene, University of Pennsylvania.
(Director: A. C. Abbott, M. D.)]

By **J. E. Sweet, A. M., M. D.**,
Fellow of the Rockefeller Institute of Medical Research.

We would present in the following brief form²) the results of a year's work upon several phases of the problem of experimental diabetes mellitus. The work was conducted under the auspices of the Rockefeller Institute, in the Laboratory of Hygiene of the University of Pennsylvania; I am indebted to the Director of the Laboratory, Dr. A. C. Abbott, for the suggestion which led to the work, as well as for his assistance in every possible way during its progress.

Our problem was to find an explanation for the fact long known to clinicians and to students of the question of immunity, that the diabetic organism is abnormally susceptible to infectious processes. We have directed our attention mainly to the question of hemolysis, because we believe that the methods employed in the study of the phenomena of hemolysis alone permit of an analytic investigation. We have included, however, a study of the bactericidal action of the diabetic serum; a study of the relative avidity of the erythrocytes of the diabetic for a specific lysin; a study of the relation of the leucocytes to the phenomenon of decreased resistance; and have included studies of certain specific phases of the problem which have presented themselves in the course of the work. Our experiments were controlled in every instance by parallel tests with the sera of normal control dogs, all conditions of the experiment being the same.

We have not included a discussion of the vast literature of the different forms of diabetes which we have taken up, except in so far as the bearing of the work of others is directly upon our own problem;

¹) Read before the American Association of Pathologists and Bacteriologists. May 1903.

²) Submitted for publication, July 15th, 1903. The report of our work will appear in detail in an early number of the Journal of medical research.

an attempt to explain what we have found seems futile in the light of our present knowledge. Starting from the facts that phlorizin, adrenalin chloride, and the complete removal of the pancreas will cause an excretion of glucose varying in amount from a simple glycosuria to a true, progressive diabetes mellitus, we will present the facts which we have demonstrated, and shall set aside for the present a discussion of their ultimate bearing upon the problem of immunity.

We have also considered the possibility of rendering the pancreas functionally inactive by means of a specifically lytic serum, obtained by immunizing one species against the cells of the pancreas of another species; but our preliminary tests did not hold out the slightest promise of definite results. It is unnecessary to describe at length the methods which we have employed, since we have followed closely the customary procedures.

The difficulties encountered in the course of such a problem are so self-evident that we do not feel it necessary to make apologies for the fact that our results were obtained from a relatively small series of animals. The results are so concordant, and are borne out in so many instances by the records of clinical observations, that when the separate conclusions are considered in their connection with the results of the entire work, we believe that they are fully justified; thus, for example, the results with phlorizin and adrenalin glycosuria, when considered in the light of the fact that complete removal of the pancreas, — i. e., the induction of a true diabetes, — is necessary to a decreased resistance, seem as fully justified as though obtained directly from a large series of animals treated with these substances.

We first undertook a study of phlorizin diabetes as a control to our further work, and because it has been reported that white mice, when fed with phlorizin, lose their natural immunity to the glanders bacillus. We have found that the subcutaneous injection of an alcoholic solution of phlorizin will produce a slight, though readily demonstrable, increase of the hemolytic complement for bovine erythrocytes in the serum of rabbits. Such an injection gives rise to extensive local inflammatory processes, and to this inflammatory reaction, we think, is due this increase; it is a well-known fact that an increase of complements occurs coincident with the inflammatory reaction. The injection of phlorizin causes no change in the amount of amboceptors contained in the serum of a specific immune rabbit.

The intraperitoneal injection of adrenalin chloride presents the immediate difficulty encountered by all workers with this substance, that the minimum lethal dose varies widely for reasons as yet unknown. Our experiments were limited to a small number of animals on this account, but the results did not seem to warrant a further expenditure of the great amount of time necessary for experiments of this character. It was evident from our few experiments that adrenalin chloride glycosuria is not accompanied by any marked changes in the reactions of the serum of the treated animal, altho it seems probable that a mild inflammatory reaction may follow the intraperitoneal injection of this substance, and thus cause an increase of the complements.

The main interest of our work centers in our experiments made with the serum of an animal in which true diabetes mellitus, characterized by a marked and progressive loss of body weight, great increase of hunger and thirst, polyuria with the constant excretion of large amounts

of glucose, muscular weakness, and final death in diabetic coma, had been produced by the complete removal of the pancreas. The dog was chosen for this work because of the anatomical arrangement of the pancreas, and also because the serum of the dog contains both amboceptors and complements for the erythrocytes of a number of our common laboratory animals, thus affording opportunity for a study in the serum of the same animal of both the factors concerned in the phenomenon of hemolysis.

Our technique of operation was in general that used by Minkowski, although we have preferred to extirpate the entire organ at one operation. The operation is not a difficult one; the difficulty in such an experimental problem as ours, has been to keep the animals alive for a sufficient length of time to permit of recovery from the immediate inflammatory processes which must unavoidably accompany the healing of the wound. We have operated upon fourteen dogs, the autopsies showing that the pancreas was completely removed except for the occurrence of aberrant islands of pancreas tissue in two animals. Of the remaining twelve dogs, three died of general peritonitis; one, of the effects of necrosis of the intestine; two died within less than forty-eight hours, the autopsy not revealing satisfactory explanation of death; three died after from four to seven days of infectious processes of a more or less extended character at the site of operation; two died after nineteen and twenty-one days respectively, in the typical condition of uncomplicated diabetes mellitus; one died after a diabetes of twelve days from a purulent pleuritis.

The hemolytic properties of the sera of the diabetic dogs were tested upon the thoroughly washed erythrocytes of the rabbit and the guineapig. The serum of the dog which died after a typical, uncomplicated diabetes of nineteen days duration, was found uniformly to have lost over 50% of its hemolytic activity for guineapig's corpuscles as compared with the serum of a normal control dog, and at the final test, nearly 70% of its hemolytic property for rabbit's erythrocytes. The same was true for the serum of the dog which died of uncomplicated diabetes of twenty-one days duration. Tests made with the heated diabetic serum upon guineapig's erythrocytes in the presence of large amounts of fresh guineapig's serum, showed that the heated diabetic serum was reactivated by the guineapig's serum in the same degree as a heated normal dog's serum; in other words, the decrease of hemolytic activity in the serum of a diabetic dog is due to the loss of hemolytic complements.

The bactericidal properties of the diabetic sera were tested upon *Staphylococcus pyogenes aureus*, *B. coli communis*, *B. typhi abdominalis* and *B. dysenteriae* (Shiga). It was found that the serum obtained from a dog in the late stages of typical diabetes had lost completely its normal bactericidal power. This was shown conclusively for colon, typhoid, and dysentery; less conclusively for the *Staphylococcus*, for the reason that the serum of the normal dog has no marked bacteriolytic action upon this micro-organism. By analogy with the hemolytic process we must conclude that this loss of bactericidal power is due to a loss of bacteriolytic complements.

Attempts to separate the amboceptors from the complements by means of the dialyser, and by the use of the method of removing the amboceptors by saturating the serum with erythrocytes in the cold, have given us no results.

The two animals in which aberrant islands of pancreas tissue were present afforded us the opportunity of studying the question of the relation of the incomplete removal of the pancreas to complement reduction. One of these animals presented at first typical diabetes with 16% of glucose in the urine, gradually decreasing to about 1%. The hemolytic tests with the serum of this dog indicated that the complete removal of the pancreas is necessary to a marked loss of complements. This fact was shown in a second dog, which excreted no sugar during the whole twenty-eight days, but in which the typical fatty stools, emaciation and marked muscular weakness, showed that the normal metabolic processes were very seriously impaired. No loss of either hemolytic or of bacteriolytic activity from the serum of this animal could be demonstrated.

The serum of the animal which died of a pleuritis after a typical diabetes of twelve days duration, the autopsy showing that the pancreas had been entirely removed, showed a primary loss of complementary activity, followed by a return to the normal state. We conclude that the inflammatory process had caused an increase of complements, which compensated the earlier loss.

Especial attention was given to the study of the relation of the leucocyte to the loss of complements in diabetes, because this phase of the problem seemed to us to offer an unstudied and peculiarly adapted field for the solution of the important question of the relation of the leucocyte to complement production. Our results, fully substantiated by clinical observations, showed that no deviation of the diabetic leucocytes from the normal can be found. There may even exist a slight hyperleucocytosis, and yet at the same time be a very marked loss of the complementary substances. We are therefore forced to the conclusion that the leucocyte has no relation to the elaboration of the complementary substances.

The nature of our problem has made it possible to study the question of the relation of a secondary infection to the excretion of glucose by the diabetic organism. Our results, obtained from a study of the records of six diabetic dogs, in which secondary infections occurred, lead us to the opinion that a direct influence of the infectious process upon the excretion of glucose does not exist, at least during the earlier stages of the disease. A secondary inhibition of general metabolism does occur, and is sufficient to explain the decrease of carbohydrate metabolism.

A study of the avidity of the receptors of the erythrocytes of the diabetic dog for specific amboceptors, compared with the avidity of the normal dog's erythrocytes, was made by subjecting equal amounts of suspensions of the diabetic and of normal erythrocytes to the action of the fresh serum of a rabbit highly immunized by successive intraperitoneal injections of dog's blood. No differences could be demonstrated.

The difficulties attendant upon such an investigation have necessarily made it impossible for us to obtain results from a large series of animals; but we believe that the work briefly outlined above fully justifies the following conclusions:

- 1) The subcutaneous injection of an alcoholic solution of phlorizin, which causes a transitory glycosuria, is followed by a slight, tho readily demonstrable, increase in the serum of the rabbit of the hemolytic complement for bovine erythrocytes; this increase is to be explained as

occurring coincident with the inflammatory reaction of the organism to the injection.

2) No effect of injections of phlorizin upon the amboceptor for bovine erythrocytes could be demonstrated.

3) The intraperitoneal injection of adrenalin chloride is followed by no marked effect upon the blood reactions; the injection may, however, cause an inflammatory reaction, and so cause an increase of complementary activity.

4) The complete removal of the pancreas from dogs, which causes a true diabetes mellitus of severe type, is followed by a marked decrease of the hemolytic activity of the diabetic dog's serum for both rabbit's and guineapig's erythrocytes.

5) The diabetes caused by the complete extirpation of the pancreas is further characterized by what is to be interpreted as a complete loss of the normal bactericidal power of the serum of the dog; this can be demonstrated conclusively for *B. coli communis*, *B. typhi abdominalis*, and for *B. dysenteriae* (Shiga); less conclusive is the demonstration of the decrease of bactericidal power of the diabetic serum for the *Staphylococcus pyogenes aureus*, for the reason that the serum of the normal dog has very little, if any, bactericidal effect upon this organism.

6) This decrease of hemolytic activity of the serum of the diabetic dog is due to loss of hemolytic complements. The loss of bactericidal power is, from analogy with the hemolytic phenomenon, doubtless to be interpreted as due to a loss of bacteriolytic complements.

7) The complete removal of the pancreas is as necessary to this loss of complements as it is to the production of a true diabetes.

8) The complete removal of the pancreas has not deprived the organism of its power to react to the inflammatory process by an increase of the complementary substances.

9) No disturbance of the normal relation of the receptor of the erythrocytes to specific hemolytic amboceptors can be demonstrated in the course of a true experimental diabetes mellitus.

10) The loss of the complementary substances in diabetes mellitus points conclusively to the fact that no relation exists between the leucocytes of any type and the production of the complements.

11) A decrease in the amount of glucose excreted by the diabetic organism cannot be shown to occur in the course of a secondary infection, at least during the earlier stages of the diabetes.

Nachdruck verboten.

Die Desinfektionsmittel aus der russischen Naphtha.

[Mitteilung aus dem militär-medizinischen Laboratorium in Tiflis.]

Von Mag. pharm. **J. Kupzis.**

Die antiseptischen Eigenschaften des russischen Erdöles waren seit alten Zeiten den kaukasischen Völkern bekannt. Nachher verbreitete sich der Gebrauch der Naphtha und ihrer Destillate in der russischen Volksmedizin, wo sie noch heutzutage eine nicht geringe Rolle gegen Cholera, Krätze u. s. w. spielt. Die wissenschaftliche Medizin macht vor-

läufig von den Heilkräften des Erdöles bloß einen sehr geringen Gebrauch, weil man bis vor kurzem nicht wußte, was denn eigentlich in der Naphtha antiseptisch wirkt. Nicht bloß einmal wurde der Versuch gemacht, ganze Gruppen chemischer Verbindungen aus der Naphtha als Desinfektionsmittel anzuwenden, und besonders viel geschah es zur Zeit der Choleraepidemien, wenn alle Desinfektionsmittel nicht nur im Preise steigen, sondern auch stark der Fälschung unterliegen, was besonders bei der rohen Karbolsäure der Fall ist.

Die in Rußland von verschiedenen Autoren vorgeschlagenen Naphthadesinfektionsmittel lassen sich ihrer Darstellung nach in 3 Gruppen unterbringen, und zwar:

1) Mittel, die aus der Rohnaphtha oder ihren Destillaten durch Extrahieren mit Säuren oder Alkalien dargestellt werden.

2) Mittel, die aus den Erdöldestillaten mit Hilfe von Seife bereitet werden.

3) Naphthasäuren.

Zur ersten Gruppe gehören: Dr. Bartoschewitz¹⁾ Desinfektion und die Schewelinschen Präparate²⁾, Naphthiol, Naphthaextrakt, Sulfo-naphthen, Naphtha I und II. Die Darstellungsweise dieser Präparate ist eine ganz empirische und die Präparate haben keine beständige Zusammensetzung. Zu ihrer Bereitung benutzt man die sauren und alkalischen Abfälle der Kerosinfabriken. Der Hauptsache nach besteht das Desinfektin aus emulgierten Kohlenwasserstoffen und Natronsalzen hochsiedender Erdölsäuren. Im Naphthiol befinden sich alle Naphthawasserstoffe, Ammonsalze der Sulfosäuren und Naphthensäuren und viele Kohlenwasserstoffe.

Die wirksamsten Bestandteile des Naphthaextraktes sind die Natronsalze der Naphthensäuren, aromatischen Sulfosäuren, Schwefel- und schwefeliger Säuren oder mit anderen Worten gesagt das Naphthaextrakt stellt in sich die alkalischen Abfälle der Kerosinfabriken vor. Wenn man aus dem Naphthaextrakt die Salze der Schwefel- und schwefeligen Säuren entfernt, so erhält man das Sulfo-naphthen. Schewelins Naphtha I und II sind weiter nichts als die Abfallschwefelsäure, die man bei der Reinigung des Petroleumdestillates erhält. Alle oben genannten Präparate haben sich nicht einbürgern können, da ihre Zusammensetzung von der des Rohnaphtha abhängig ist und die Bestandteile des letzteren in den verschiedenen Fundorten sind grundverschieden. Mehr Erfolg hat das aus Naphtha mit Seifenzusatz hergestellte Mittel, das Naphthalan, aufzuweisen. Soviel jetzt über die Naphthalanbereitung bekannt ist, so wird es aus den hochsiedenden Fraktionen eines Jelisa wetpolschen Naphtha hergestellt. Die Zusammensetzung des Naphthalanrohöles besteht aus Terpenen, Naphthenen, Olefinen und anderen ungesättigten Kohlenwasserstoffen, an denen das kaukasische Erdöl reich ist. Wenn auch allen diesen Stoffen eine Wirkung nicht abzustreiten ist, so sind doch die wirksamsten Substanzen des Naphthalans noch unbekannt. Zwar schreibt man dem Naphthalan keine antiseptische Eigenschaften zu, aber dennoch preist man es gegen Krankheiten an, die auf Infektion beruhen. Wichtiger als alle genannten Präparate sind die Naphthasäuren. Diese Säuren kommen im kaukasischen Erdöle bis ca. 1 Proz. vor. Besonders viel sind sie in den ungereinigten Destillaten

1) und 2) Kupziss, J. D., Untersuchungen über die schädlichen Eigenschaften der Naphtha und ihrer Destillate. [Dissert.] Jurjew 1901.

enthalten (im Solaröl sogar bis 3 Proz.). Von den Handelsprodukten des Naphtha werden die Säuren durch Waschen mit Natronlauge entfernt und diese Waschwasser bilden eben die alkalischen Abfälle der Naphthafabriken. Baku liefert jährlich bis 300000 dz solcher Abfälle, die vorläufig noch einen sehr geringen Wert haben. Durch Zersetzung der Abfälle mit Salzsäure erhält man die Rohsäuren. Die chemisch reinen Säuren erhält man erst durch Verseifung mit Alkalien der Esterfruchtäther-ähnlich riechenden Körper- und Zerlegung der Kalisalze mit Salzsäure. Was die chemische Natur der Erdölsäuren anbelangt, so gehören sie hauptsächlich zur Gruppe der Naphthensäuren. Die niedrig siedenden Fraktionen enthalten auch noch Glieder der Säuren der Fettreihe. Viele von den Säuren haben Isomere, deren Trennung sehr schwierig ist. Von den Naphthensäuren näher untersucht sind die Säuren, die 6—13 Atome Kohlenstoff haben; die höheren Homologen sind dagegen fast unerforscht.

Zuerst wurde die Anwendung der alkalischen Salze der Naphthensäuren von Semmler und Hans gegen Holzparasiten empfohlen. Darauf wurde die antiseptische Kraft der Säuren von Charitschkoff gegen Mikroorganismen, die Holz zerstören, festgestellt, und auf Grund seiner Untersuchungen schlägt Charitschkoff vor, Eisenbahnschwellen, um sie vor Fäulnis zu schützen, mit den Kupfersalzen der Erdölsäuren zu imprägnieren. Meine Untersuchungen im Jahre 1901¹⁾ bewiesen die stark vernichtende Kraft des Gemisches chemisch reiner Naphthensäuren gegenüber pathogenen Mikroorganismen. Die Resultate meiner Arbeit waren folgende:

Von einem Gemische aller chemisch reinen Naphthensäuren gingen Choleravibrionen in Emulsionen 1:2000 nach 5 Minuten zu Grunde. Staphylokokken wurden von Emulsionen 1:1000 vernichtet, wozu 15 bis 60 Minuten erforderlich waren. 4-proz. Emulsionen töteten *B. anthracis*. Sehr widerstandsfähig waren *B. typhi* und *Coli commune*, denn sie gingen zu Grunde erst von 4 Proz. Emulsionen in 30 Stunden. Bevorstehende Arbeit bildet die Fortsetzung jener Untersuchung und hat den Zweck, die antiseptischen Eigenschaften der Säuren bei solchen Bedingungen zu ermitteln, wie sie in der Praxis vorkommen, denn, wie allbekannt ist, unterscheiden sich Resultate, welche im Reagenzglase erhalten werden, sehr von den Resultaten, die man in der Praxis erhält.

Versuche mit Rohsäuren.

Die Rohsäuren, deren Darstellung bloß einige Kopeken pro Pud beträgt, konnten vorzügliche Anwendung in der Sanitärpraxis finden, falls ihre desinfizierende Kraft hinreichend ist. Zu meinen Versuchen nahm ich faulenden Harn, Fäkalmassen und Jauche aus einer Senkgrube. Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Von dem mit einer bekannten Menge Naphthensäuren versetzten Untersuchungsobjekte wurde nach einer bestimmten Zeit eine Platinöse in sterilisierte Bouillon übertragen und das Gemisch 6 Stunden bei 37° gehalten, damit die nicht getöteten Mikroorganismen sich entwickeln und so bei der Untersuchung nicht ent schlüpfen könnten. Darauf wurden von dieser Bouillon neue Reagenzgläser mit Bouillon, Agar und Gelatine infiziert und das Wachstum beobachtet. Zeichen + bedeutet Wachstum der Bakterien, Zeichen — Sterilität der Mischung.

1) J. Kupzis l. c.

Versuche mit faulem Harne.

Proz.-Gehalt der Rohsäuren im Harne	Desinfektionsdauer										
	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
2	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
4	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Kontrollversuche ohne Säuren	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Versuche mit Fäkalmassen.

Dicke Fäkalmassen wurden mit gleichem Gewichte Wasser vermischt und dann erst mit Säuren versetzt.

Proz.-Gehalt der Rohsäuren	Desinfektionsdauer											
	1 Tg.	2 Tg.	3 Tg.	4 Tg.	5 Tg.	6 Tg.	7 Tg.	8 Tg.	9 Tg.	10 Tg.	20 Tg.	30 Tg.
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Kontrollversuch ohne Säuren	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

II. Versuche mit Fäkalmassen (1 : 5 mit Wasser verdünnt).

Proz.-Gehalt der Säuren	Desinfektionsdauer									
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	12 Std.	15 Std.	24 Std.	2 Tg.	3 Tg.	4 Tg.	5 Tg.
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Kontrollversuche ohne Säuren	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Aus obigen Versuchen ist zu sehen, das man faulenden Harn sehr leicht mit den Rohsäuren steril machen kann. Ein Zusatz von 1 Proz. tötet alle Mikroorganismen in 24 Stunden. 2—4-proz. Emulsionen bewirken dasselbe schon in 2—6 Stunden. Bei der Desinfektion der Fäkalmassen spielt die Konsistenz letzterer eine große Rolle. Sind die Massen dick, so können die schwer löslichen Säuren nicht diffundieren und infolgedessen waren mit 3—5-proz. Emulsionen selbst nach 1 Monate sterile Faeces nicht zu erlangen, während es mit 5-proz. Emulsionen bei stark verdünntem Untersuchungsobjekte schon am 4. Tage zu erreichen war. Bei diesen Versuchen wurden vorzügliche desodorierende Eigenschaften der Säuren beobachtet, denn nach 2—3 Tagen verschwand der Geruch des Harnes und der Fäkalmassen.

Durch Versuche wurde festgestellt, daß der Wirkung der Naphthensäuren solche Bakterien widerstehen, die auf sauren Nährböden wachsen (*B. Coli commune*, *B. typhi*). Es war nicht uninteressant zu erfahren, wie die Säuren auf Cholera bacillen enthaltende Faeces wirken und ob man auch letztere steril erhalten kann. Um die Wirkung des *B. coli* zu beseitigen, wurden die Fäkalmassen sterilisiert und darauf mit 2-tägigen Cholera kulturen versetzt. Ebenso wurden zu sterilisierten Faeces

Typhus- und Koli-Kulturen zugesetzt. Die Resultate waren folgende: Es gelang ziemlich leicht, in den Fäkalmassen die Cholera bacillen zu vernichten, obgleich hierzu viel größere Mengen Säuren nötig waren als in den Reinkulturen. 1-proz. Säuren machten Cholerafaeces steril in 30 Minuten und in Mengen von 5 Proz. zugesetzt, schon nach 10 Minuten. Viel mehr Widerstand leisteten Typhus- und Coli-Kulturen in Fäkalmassen. 1-proz. Emulsionen vernichteten Typhuskulturen in Fäkalmassen erst nach 4 Tagen und 5-proz. erst nach 2 Tagen. Mit Coli-Kulturen versetzte Exkrementen waren selbst mit 5-proz. Menge Naphthensäuren sogar in 4 Tagen nicht steril zu erhalten.

Versuche mit Jauche aus einer Senkgrube. In großen Töpfen wurden zu 50 Pfd. Jauche gegossen, mit $\frac{1}{2}$ Pfd. Rohsäuren versetzt und öfters durchgemischt. Nach 7 Tagen war die Jauche noch nicht steril. Beim zweiten Versuch wurde das Wasser der Senkgrube mit 2 Pfd. Säuren durchmischt und in diesem Falle waren schon nach 3 Tagen keine Mikroorganismen nachweisbar.

Obgleich die Rohsäuren keine besonders großen antiseptischen Kräfte bei der Desinfektion der Typhusfaeces besitzen, so können sie aber ganz vorzügliche Dienste bei Choleraepidemien leisten. Ihr großer Vorzug vor Eisen-, Kupfervitriol und Sublimat besteht darin, daß sie nicht durch Eiweißstoffe und Schwefelwasserstoff zersetzt und dadurch unwirksam gemacht werden. Ihr Preis ist sehr gering, denn in den Naphthafabriken wird derselbe kaum höher als 60—70 Kopeken pro Pud betragen.

Versuche mit reinen Säuren.

Da die Erdölsäuren eine Menge homologer Säuren enthalten, so war es nicht unwichtig zu ermitteln, ob alle Säuren antiseptisch wirken. Ich unternahm nicht die Isolierung der einzelnen Säuren, weil sie noch nicht vollständig gelungen ist, sondern verwandelte die Rohsäuren in Methylester, fraktionierte letztere, verseifte die einzelnen Fraktionen und unterwarf die daraus gewonnenen reinen Säuren der bakteriologischen Prüfung. Nur durch Verseifung der Ester kann man reine Säuren erhalten. Bei der Destillation der Rohsäuren erhält man Produkte, die sich von den durch Verseifung der Ester gewonnenen unterscheiden. Zu den vergleichenden Untersuchungen der antiseptischen Kraft der einzelnen Säuren wurden 2-tägige *Staphylococcus albus*- und *St. aureus*-Kulturen angewandt. Nachstehende Tabelle (p. 268) zeigt die Resultate:

Alle Fraktionen der Säuren vernichten Eiterbakterien, aber mit der Erhöhung des Siedepunktes der Methylester und folglich auch des der Säuren vermindert sich die antiseptische Kraft. Am stärksten sind die Säuren, deren Ester zwischen 190—225° sieden. $\frac{1}{2}$ -proz. Emulsionen töteten *St. albus* in 15 Minuten, *St. aureus* in einer Stunde. Beim Gehalt von 10-proz. Säuren auch der höheren Fraktionen gehen die Eiterbakterien noch rasch zu Grunde, nur *St. aureus* verlangt von der letzten zur Untersuchung genommenen Fraktion (270—290°) 2 Stunden.

Die am meisten antiseptisch wirkenden Säuren (Siedepunkt der Methylester 190—225°) gehören zu der Gruppe der Naphthensäuren, welche 7—11 Kohlenstoffatome im Molekül haben. Ihre Literatur ist im Wischins Werke „Die Naphthene“ zusammengefaßt. Was die Menge der starkwirkenden Säuren anbelangt, so beträgt sie in den Rohsäuren von Baku ca. 20 Proz. Etwa 13—15 Proz. Säuren erhält man aus den Fraktionen der Ester, die bei 226—229° und 240

Einwirkungsdauer der chem. reinen Säuren auf 2-tägige St. albus und St. aureus Bouillonkulturen.

Säuren, deren Methyl- ester bei der unten bezeich- neten Temp. siedeten	Zu den Rein- kulturen zuge- setzte Säure- menge	5'	10'	15'	30'	1 ^h	2 ^h	3 ^h	6 ^h	20 ^h	24 ^h	30 ^h	Kontroll- versuch ohne Säuren	
		St. albus	St. aureus	St. albus	St. aureus	St. albus	St. aureus	St. albus	St. aureus	St. albus	St. aureus	St. albus		St. aureus
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
190—225	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
	2 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
	5 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
226—228	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
230—240	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
241—250	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
251—260	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
270—290	$\frac{1}{10}$ Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	$\frac{1}{2}$ "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

bis 250° sieden. Es wurden noch einige Versuche mit den starken Säuren und einigen pathogenen Mikroorganismen angestellt, wobei von $\frac{1}{8}$ -proz. Emulsionen Cholera vibrien nach 36 Stunden starben; viel energischer war die Wirkung 1-proz. Emulsion, denn von ihr waren die Cholera keime nach 2 Minuten, St. aureus nach 5 Minuten, B. typhi und Coli comune nach 48 Stunden vernichtet. Sporentragende Form des B. Anthracis starb von 2-proz. Emulsionen erst in 3 Tagen. Fast gar keine oder nur sehr geringe antiseptische Eigenschaften besitzen die Methyl- und Aethylester. 2-proz. Emulsionen konnten selbst nach 2 Tagen St. albus-Kulturen nicht töten und die Luftbakterien wuchsen ganz vorzüglich auf festem Nährboden, dem 1—2-proz. Ester zugemischt

waren. Bei der praktischen Anwendung der Naphthensäuren muß man bedeutend größere Mengen verwenden als zur Vernichtung der Reinkulturen nötig sind. Die Versuche mit den Reinkulturen fallen deshalb so günstig aus, weil die Mikroorganismen in den Kulturen sehr abgeschwächt sind. So waren die Kulturen der Eiterbakterien von $\frac{1}{2}$ -proz. Emulsionen in kurzer Zeit vernichtet, 15–60 Minuten, dagegen im Eiter blieben sie selbst noch 2 Tage lebensfähig. Erst nach 1 Stunde gelang es 2-proz. Emulsionen den Eiter steril zu machen, während die Eiterbakterien aus den Kulturen schon nach 2–5 Minuten starben.

Alle oben angeführten Versuche weisen darauf hin, dass die Naphthensäuren ganz vorzügliche Dienste in der Chirurgie leisten können. Die beste Anwendungsform wäre die Salbenform und besonders eignen sich die Säuren zum Imprägnieren von Verbandstoffen. Wässrige Lösungen können nicht angewandt werden, weil die Säuren sich schwer im Wasser lösen. Durch einige Vorversuche wurde festgestellt, daß 50-proz. Salben, aus Naphthensäuren und Vaseline bereitet, keine Reizerscheinungen hervorrufen.

Um die antiseptischen Kräfte der Naphthenverbandstoffe festzustellen, habe ich folgende Versuche angestellt: Watte und Marly wurden mit einer Lösung der Säuren in Benzin imprägniert und getrocknet. Darauf wurden 0,2 g schwere Stücke der Verbandstoffe auf Glasplatten unbedeckt im Laboratorium gehalten. Nach 2 Wochen wurden die Watte- und Marlystückchen in sterilisierte Bouillon gelegt, wobei die Bouillon steril blieb, während ungetränkte Kontrollwattestückchen nach wenigen Stunden vollständige Trübung der Bouillon hervorriefen.

2. Versuch. 0,2 g schwere Stücke 20-proz. Naphthensäurewatte wurden mit 0,5 ccm 2-tägiger Kultur des *St. aureus* begossen und gleich in sterile Bouillon gebracht. Nach bestimmter Zeit wurden 3 Platinösen von dieser Mischung, bestehend aus Naphthensäuren, Watte und Bouillon in neue und sterile Bouillon gebracht, wobei folgende Resultate erhalten wurden:

Die Naphthensäurewatte befand sich in der Bouillon:

	5 Minuten	10 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
Resultat der Wirkung	+	+	+	—	—

Wie aus diesem Versuche zu ershen ist, waren die Eiterbakterien schon nach 1 Stunde vernichtet. Beim 5–30 Minuten andauernden Verbleiben der Naphthensäurewatte in der Bouillon konnte die Wirkung der Säuren sich noch nicht entfalten, aber 1 Stunde war schon hinreichend, um die Bouillon so mit Säuren zu sättigen, dass die Bakterien vollständig vernichtet wurden.

3. Versuch. Mehrere mit Eiterbakterien getränkte Naphthensäurewattestücken wurden bei 20° ausgetrocknet. Darauf wurden sie in Bouillon gebracht, wobei kein Wachstum der Mikroorganismen wahrnehmbar war. Während des Trocknens, was 2 Tage dauerte, waren die Staphylokokken von der in der Watte enthaltenen Säuremenge umgekommen. In den Kontrollversuchen konnte man auch nach dem Austrocknen reichliches Wachstum beobachten.

Die Naphthensäureverbandstoffe sehen vollständig weiss aus und fühlen sich ein wenig feucht an. Mit Bor- und Salicylsäuren getränkte Watte und Marly sind sehr wenig hygroskopisch. Besonders geringe Aufsaugkraft von Flüssigkeiten besitzen die Verbandstoffe, welche mit Hilfe von Glycerin, Damarharz und Kolophonium imprägniert werden. Die Wasser aufsaugende Kraft der mit Naphthensäuren getränkten Ver-

bandstoffe ist nur um 1,6 ccm pro 1 g Watte weniger als bei der hygroskopischen Watte. 5,0 Watte vor der Behandlung mit Naphthensäuren nahmen 80 ccm Wasser auf, nach dem Imprägnieren mit 20-proz. Säuren 72 ccm. Der große Vorzug der Naphthenverbandstoffe besteht darin, daß ihre wirksame Substanz, die Naphthensäuren erst bei 200—300° flüchtig sind, weswegen die Verbandstoffe auf Wunsch auch sterilisiert werden können. Außerdem verringert sich die Menge der wirksamen Substanz in den Verbandstoffen nicht, wie es bei Jodoform und Sublimatverbandstoffen der Fall ist.

Fassen wir alles oben Gesagte kurz zusammen, so erhalten wir folgendes: Die alkalischen Naphthaabfälle enthalten stark antiseptisch wirkende Substanzen, die Naphthensäuren.

Die Rohsäuren können als besonders gute Desinfektionsmittel während den Choleraepidemien gebraucht werden. Auch eignen sie sich zum Desinfizieren der Typhusfaeces, Senkgruben u. s. w.

Die chemisch reinen Säuren vernichten ganz vortrefflich Eiterbakterien, wobei am wirksamsten die niedrig siedenden Säuren sind. Mit der Erhöhung des Siedepunktes der Methyl ester und folglich auch des der Säuren nimmt die antiseptische Wirkung ab. Empfehlenswert ist die Anwendung mit reinen Säuren imprägnierter Verbandstoffe. — Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor des militär-medizinischen Laboratoriums Herrn Dr. M. V. Lunkewitsch für die Förderung dieser Arbeit meinen besten Dank abzustatten.

Nachdruck verboten.

Versuche von Bakterienzüchtung in einer nativen Mucoidlösung.

[Aus dem Laboratorium der hydrotherapeutischen Anstalt der Universität Berlin. (Leiter: Geheimrat Prof. Dr. Brieger.)]

Von Dr. **Leo Langstein** und Dr. **Martin Mayer**.

Je inniger sich die Wechselbeziehungen zwischen bakteriologischer und physiologisch-chemischer Forschung gestalten, desto größere Bedeutung gewinnt das Studium der Lebensvorgänge von Bakterien in Nährmedien, die nur einen einzigen wohlcharakterisierten Proteinstoff enthalten. Wenn es auch möglich ist, solche Lösungen künstlich herzustellen, so muß die Bedeutung dieser doch der eines Nährbodens gegenüber zurücktreten, der ein Naturprodukt von konstanter Zusammensetzung ist. Ein solcher bietet sich in der nach Koagulation von Eiklar zurückbleibenden Lösung; denn diese enthält außer geringen Mengen von Traubenzucker und Salzen nur noch einen einzigen Eiweißkörper, das sogenannte *Ovomukoid*.

Das *Ovomukoid*, im Hühnerei von **Moerner**, **Neumeister** und **Salkowski** fast gleichzeitig entdeckt, erinnert in seinem physikalischen Verhalten vielfach an das einer Albumose. Wie der eine von uns im Gegensatz zu **Milesi** mit voller Sicherheit nachgewiesen hat, ist es im Eiklar präformiert und ein Produkt von folgender konstanter Zusammensetzung:

C : 48,82 H : 6,90 N : 12,41 S : 2,19 Proz.

Konstitutionell ist es durch seinen reichlichen Gehalt an Kohlehydrat (Glykosamin) charakterisiert, der nach Seemann 34,9 Proz. beträgt. Da das Ovomukoid sämtliche Gruppenreaktionen der Eiweißkörper gibt, dürften sich dieselben Atomgruppen an seinem Aufbau beteiligen wie an dem der meisten anderen Proteinstoffe. Durch den Reichtum an Kohlehydrat steht das Ovomukoid den natürlich vorkommenden Mucinen sehr nahe. Denn Friedrich Müller fand im Sputummucin 35 Proz. Glycosamin, also die gleiche Menge wie Seemann im Ovomucoid. Bei der großen Bedeutung, die dem Schleim in der Biologie der Bakterien zukommt, mußten Züchtungsversuche in unserem Nährmedium auch unter diesem Gesichtspunkte interessieren¹⁾.

Nach unseren bisherigen Versuchen gelingt es, in dem ovomukoidhaltigen Nährmedium eine große Reihe von Bakterien, und zwar nicht nur anspruchslose Arten, zu raschem und ausgiebigem Wachstum zu bringen.

Die Nährlösung wurde bisher in folgender Weise dargestellt: Das Eiklar von 5 Eiern wird in 500 ccm siedenden Wassers unter beständigem Umrühren eingetragen und nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure nochmals aufgeköcht. Nach Filtration vom ausgeschiedenen Eiweißkoagulum wird das Filtrat auf 200 ccm eingedampft, nach entsprechender Alkalisierung mit Soda in Röhrchen gefüllt und im Dampf sterilisiert. Dabei gewinnt es ein Aussehen ähnlich dem der Nährbouillon.

Gerade die Einfachheit der Darstellung unseres Nährbodens, der dazu noch äußerst wohlfeil ist, berechtigt zu größeren Versuchsreihen. Ueber die Einzelresultate solcher Versuche mit verschiedenen Bakterien, betreffend den Abbau des Mukoids, Prüfung der Wachstumsintensität, Virulenz, Giftbildung in der ursprünglichen und durch Zusätze modifizierten Nährlösung soll später ausführlich berichtet werden.

Litteratur.

- 1) Moerner, C. Th., Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XVIII. p. 525.
- 2) Neumeister, Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXVII. p. 369.
- 3) Langstein, Hofmeisters Beiträge Bd. III. p. 510.
- 4) Milesi, Bolletino della Soc. medic. chim. di Pavia. 1898.
- 5) Seemann, Diss. Marburg, 1898.
- 6) Müller, Friedrich, Zeitschr. f. Biologie. 1901.

Nachdruck verboten.

Notiz über die Anwendung des Neutralrots (Rothberger) zur Differenzierung von Streptokokken.

Von Dr. **M. H. Gordon** in London.

Der Nährboden, den ich mit Erfolg zur Differenzierung verschiedener Streptokokken benutze, ist gewöhnliche Nährbouillon, der 2 ccm per Liter einer 2-proz. wässerigen Lösung von Neutralrot zugesetzt wurden. Beim anaëroben Kulturverfahren (Buchner) ist in 48 Stunden bei 37° C das Resultat entschieden. So zeigte es sich, daß, während der *Streptococcus brevis* (Lingelsheim) des normalen Mundspeichels

1) Professor Escherich hat mich zur Zeit meiner Tätigkeit an seiner Klinik zur Herstellung eines mucinhaltigen Nährbodens angeregt. L. Langstein.

positiv reagiert, sowohl der *Streptococcus longus* des normalen Mundspeichels als auch der *Streptococcus pyogenes* — dem Eiter entstammend, sowie auch aus dem Blute verschiedener Fälle von Septikämie — negatives Resultat liefern.

St. Bartholomäus-Hospital.

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

Inhalt.

- Bail, Oskar u. Petterson, Alfred**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Schluß.), p. 247.
- Bajardi, A.**, Die „*Streptothrix lingualis*“ (Syn. *Vibrio*, *Spirosoma linguale*) im Munde der Gesunden und der Diphtherischen, p. 129.
- Bertarelli, E. u. Volpino, G.**, Morphologische und biologische Beobachtungen über einen Fall von Wutkrankheit beim Menschen, mit besonderer Rücksicht auf die Gegenwart und Verteilung der Negrischen Körperchen im Zentralnervensystem, p. 221.
- Bettencourt, Annibal, Kopke, Ayres, de Rezende, Gomes und Mendes, Correia**, Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit. (Forts.), p. 212.
- Bongert, J.**, Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der großen Haustiere. (Schluß.), p. 168.
- Centanni, Eugenio**, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. (Forts.), p. 239.
- Gordon, M. H.**, Notiz über die Anwendung des Neutralrots (Rothberger) zur Differenzierung von Streptokokken, p. 271.
- Harz, C. O.**, Pomeranzenfarbiger Schweiß, p. 153.
- Ignatowsky, A.**, Zur Frage vom Verhalten verschiedener Gewebe des tierischen Organismus gegen das Tetanusgift. (Schluß.), p. 158.
- Kamen, Ludwig**, Weiterer Beitrag zur Lokalisation der Influenza an den Tonsillen, p. 150.
- Kayser, Heinrich**, Die Bakteriologie des Paratyphus, p. 154.
- Klein, E. u. Gordon, Mervyn**, Ueber die Herkunft einer Rosahefe, p. 138.
- Kupzis, J.**, Die Desinfektionsmittel aus der russischen Naphtha, p. 263.
- Langstein, Leo u. Mayer, Martin**, Versuche von Bakterienzüchtung in einer nativen Mucoidlösung, p. 270.
- Lingard, Alfred**, The giant *Trypanosoma* discovered in the blood of bovines, p. 234.
- Mezincescu, D.**, Ueber ein Eiterspirillum, p. 201.
- Murillo, F.**, Ueber die Diphtherietoxinkurve, p. 203.
- Schittenhelm, A. u. Schröter, F.**, Gasbildung und Gasatmung von Bakterien, p. 146.
- Sweet, J. E.**, The reactions of the blood in experimental diabetes mellitus. A contribution to our knowledge of the thermolabile complements. First contribution, p. 259.
- Uhlmann, Otto**, Der Bakteriengehalt des Zitzenkanals (*Ductus papillaris*) bei der Kuh, der Ziege und dem Schafe, p. 224.
- Wehmer, C.**, Der *Aspergillus* des Tokelau, p. 140.

Schmidt
Nachdruck verboten.

On the branching occasionally exhibited by *Bacillus diphtheriae*.

[From the Laboratory of Hygiene, University of Penna.]

By

A. C. Abbott, M. D.,
Professor of Hygiene and Bacteriology.

and N. Gildersleeve, M. D.,
Assistant in Bacteriology, University
of Pennsylvania.

With 5 figures.

From time to time during the past ten years attention has been called to the branching occasionally exhibited by *B. diphtheriae* both under conditions of artificial cultivation as well as in the diseased tissues.

Various interpretations have been given to this infrequent morphological peculiarity. By some it is regarded as having an important bearing upon the natural history of this organism, Lehmann and Neumann (1) having even gone so far as to classify *B. diphtheriae* with the hyphomycetes. Others, perhaps the majority, take the matter less seriously, regarding the phenomenon as evidence only of degeneration involution, consequent upon growth under unfavorable environment [especially A. Fischer (2) and Migula (3)]. Still others have noted the phenomenon without comment as to its significance or cause.

As the conditions under which this branching has been observed are manifold; as it never occurs in all the cells of a culture, but only in a relatively small proportion: as it usually disappears immediately upon the cultures exhibiting it being transplanted to media generally regarded as offering conditions most favorable to the normal growth of bacteria; and as it is far from frequent, it is evident that the information at our disposal is scarcely sufficient to warrant a final opinion upon its significance.

With the hope of getting more light on the subject we have undertaken to determine:

- 1) If there is any condition of artificial cultivation that constantly favors the conspicuous development of the branching forms.
- 2) If in the cultures that exhibit branching it is possible to detect any evidence of true mycelial formation.
- 3) If the branching observed may be regarded as a phase of normal development or as indicative of degeneration.

I. As to the constancy of branching.

In this connection the results of our work, as might have been predicted, demonstrate that on none of the standard media ordinarily used for the cultivation of bacteria are the branching forms to be constantly observed. On some of them, such for instance as standard nutrient agar agar, potato and bouillon we have occasionally observed them, but never in large numbers except possibly on the potato and on potato-gelatin, when they were always accompanied by many of the

well known degeneration or involution forms. We have not found that their frequency is influenced by the presence or absence of oxygen. Nor have we discovered any method of cultivation that regularly insures evidence of branching in more than only a very small proportion of the cells in a culture.

The method by which we were able to demonstrate branching most frequently is a slight modification of that which gave to Carl Fraenkel (4) his most satisfactory results. It consists in the cultivation of the organism at 37°–38° C upon a solidified mixture of three parts of thoroughly beaten whole egg and one part of peptone bouillon containing 2 % of glucose. Sterilization and solidification was accomplished by the Councilman-Mallory process.

Ten virulent cultures of *B. diphtheriae* from as many different sources were cultivated upon this medium. Under a neutral or slightly alkaline reaction the growth was in all cases about as voluminous and macroscopically and microscopically as characteristic as that observed when the blood serum mixture of Loeffler is employed; whereas with increasing acidity, beginning at the neutral point, the growth became less and less luxuriant until it finally ceased entirely.

On the neutral or slightly alkaline egg-bouillon mixture branching was observed in 9 out of the ten cultures fairly often but by no means constantly or conspicuously; while the remaining cultures did not exhibit it with certainty. On the other hand if we began with the neutral medium and worked gradually toward the acid side the budding and branching forms were much more readily and frequently encountered, though, as said, the growth became less and less voluminous and, of considerable significance, the evidence of degeneration in the individual cells of the culture became more and more conspicuous. A number of cultures of so-called pseudo-diphtheriae bacilli¹⁾ were studied from this standpoint but in not a single case could branching be demonstrated, even when the method most favorable to its exhibition by genuine diphtheria bacilli was employed.

The results obtained by the employment of the normal blood serum mixture of Loeffler, as well as the other standard media commonly used in the laboratory, were of such irregularity that the egg-bouillon mixture mentioned above was finally used exclusively for our studies.

The method of examination was: to cultivate the organism upon the slanted surface of the solidified egg-bouillon mixture of different reactions and after short intervals (2 or 3 hours) to examine them microscopically by the ordinary cover slip method. Loeffler's blue was the stain employed.

Comparing the branching forms detected by us under these conditions with those depicted in the published accounts of other investigators we have no doubt that we have seen the same forms that have attracted their attention. Whether the culture medium employed will ultimately prove to be the best possible for these studies or not we cannot say, but it was much more satisfactory than any of the others tested. When the reaction was that best suited to voluminous and rapid growth the occurrence of the branching forms was uniformly less fre-

1) By pseudo-diphtheria bacilli we mean those organisms that are like the genuine *B. diphtheriae* but which can be differentiated from it without taking into account the question of virulence.

quent than when the reaction of the mixture was sufficiently acid to retard, without actually suppressing, growth.

It is impossible to state the results numerically but some idea of the relative frequency of branching may be formed from the fact that often only a single branching cell to 4 or 5 microscopic fields could be detected in cover slips from the alkaline or neutral medium, whereas in almost every slip from the cultures on the acid medium they were easily to be found. They were more numerous on the neutral than on the distinctly alkaline medium, but even on the acid medium it cannot be said that they were markedly conspicuous by their presence.

The degree of acidity that we found best suited to our purposes was such as to require 20 cc. of Normal Sodium Hydroxide solution to the litre to bring it to the neutral point as indicated by phenolphthalein. Acetic acid was employed for acidification. After repeated trials we concluded that the acid egg-bouillon mixture employed by us was more satisfactory than the plain hard boiled egg used by Fraenkel (4) or the hard boiled yolk used by Meyerhof (5). We obtained no satisfactory results with the 4 to 5 % sodium chloride agar agar recommended by Skschivan (6).

From the foregoing it is not only evident that budding or branching of *B. diphtheria* does occur, but that under at least one particular condition it occurs with a fair degree of frequency and regularity.

II. As to the relation of the branching forms of *B. diphtheriae* to mycelial formation.

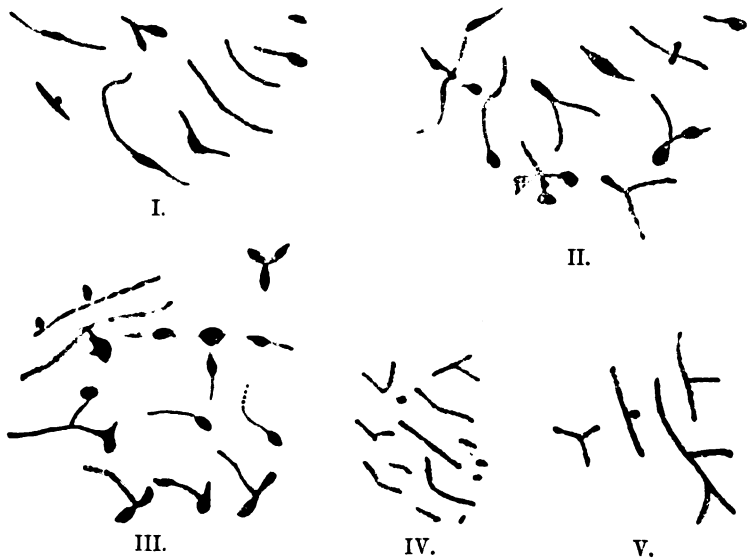
With the view of determining if in the course of its development, under the conditions found by us to be most favorable to branching, any evidence of a relation between the branched cells and true mycelial formation could be detected the following experiments were made:

The slightly acid egg-bouillon mixture mentioned above was poured into Petri dishes and sterilized and solidified by heat. Over the surface of the medium so prepared bouillon suspensions of those cultures of *B. diphtheriae* that we had decided were most prone to branching were evenly distributed by means of a sterile camel's hair pencil. The plates thus prepared were placed in the incubator at 37°—38° C and at the end of 2, 4, 6, 8 etc. hours "impression" cover slips were made, stained with Loeffler's blue solution and examined microscopically. At the same time similar plates of neutral and alkaline egg-bouillon mixture were made. As in the slanted tubes the volume of growth on the neutral and alkaline media was markedly greater than on the acid medium but the number of branching forms was constantly smaller.

On the acid plates after 2 hours at incubator temperature, the impression cover slips revealed the presence of a small number of bacilli, mostly short; some transversely striated, others marked by darkly staining granules at one or both ends. After four hours most of the cells had become much longer, usually about twice as long as in the two hour plates, and apparently a little thicker. Many club forms were now to be seen and small budlike excrescences were here and there to be observed on a number of the cells. In almost every case these buds were given off from a point in the cell that was marked by the presence of an irregular, darkly staining protoplasmic mass, not the tiny, circumscribed, almost black granules common to this organism by this method of staining. After 6 hours long, curved,

straight and clubbed rods were everywhere to be seen. On many budding was conspicuous, on others the buds had developed into branches of almost the same length as what we took to be the original cell. Many of the long rods are broken in their course, giving rise to the streptothrix appearance mentioned by Babes (7). Colony formation is now evident by the grouping together of the rods in more or less compact masses, as seen in the microscopic preparations. At 8 hours there is still greater increase in the number and size of the cells. The length is now conspicuous, many being from 6 to 8 times as long as in the plates when first examined. A number of these long cells show the presence of a deeply staining mass that seems to lie transverse to the long axis of the thread and bulges out on one or both sides. Irregularly staining club forms are numerous; in some instances these are marked by lateral swellings, or buds, in others by distinct branches. The irregular, bizarre, abnormally staining forms so commonly observed in cultures admittedly involuted are now becoming conspicuous by their presence. Beyond an increase in the size of the colonies and an increase in the number of evidently degenerated organisms 14 hours seems to be about the limit at which these morphological changes occur. After that up to 24 hours we could detect no structures that were materially different from those seen up to 14 hours, except as stated, an advance in degeneration.

The preparations made at 14 hours show the presence of organisms in some cases as short as those ever seen, in others as long as the longest ever observed by us. Many of the club shaped forms are branched, some only with short buds, others with long threads given off



I.	B. diphtheriae	from acid egg media	6 hours	growth
II.	"	"	"	"
III.	"	"	"	"
IV.	"	"	neutral egg	"
V.	"	"	branched forms produced on egg Albumin and Yolk, and occasionally on blood serum.	"

laterally. In some cases there is an appearance of a large bud attached by a slender stem to a long club or thread form. In one or two instances the pedicle of the bud gave off a branch, the whole constituting rather a complicated structure. In many parts of the microscopic fields large swollen cells of very irregular outline could be observed. They had lost all resemblance to bacteria as normally seen and usually took on the staining in an imperfect or unusual manner.

(These various appearances are sketched in the accompanying figures.)

As the cultures grew older, the cells longer and the colonies more compact, the impression cover slips revealed in a number of cases more or less dense meshworks of entangled threads. In no case, however, in any of number of series of plates made in this way, and on not a single plate of either series was it possible to detect genuine mycelial formation or anything that could be regarded as suggesting it.

The method here employed of distributing the cells of a suspension over an even surface on which they are capable of developing as colonies, and of removing at short intervals whole colonies or large parts of them from this surface by the "impression" method, causing little or no disturbance of the structure of the colony, we regard as a means of enquiry likely to reveal mycelial formation if such is in progress, but as said we failed to detect even a suggestion of this.

III. Is the branching exhibited by *B. diphtheriae* a physiological or pathological manifestation?

Because of the remarkable variations in size, shape and general appearance of *B. diphtheriae* under different conditions of development we are without a criterion from which to speak of a normal morphology for this organism. When examined directly from the diphtheric membrane it is familiar as short-segmented, irregularly staining, spindle, dumb-bell and club shaped rods, but long and irregularly staining threads may also frequently be encountered. When cultivated upon those standard artificial media best suited in general to the growth of bacteria the same morphological variations are to be observed. While one frequently notices striking morphological differences between one culture of this organism on glycerine agar and another from the same source on Loeffler's serum for instance, still we have not observed any physiological or pathogenic distinctions that correspond with these morphological variations. On the former medium the volume of growth is slight and the form of the cells small, on the latter development is voluminous and the size of the cells larger, often very much larger. On the former medium the cells exhibit little or nothing to suggest involution, while on the latter it is often difficult to rid oneself of the idea that the long, irregularly staining and irregularly outlined cells are degenerated; and yet, as one of us has remarked (8), it is "difficult to reconcile the voluminous growth of the organism, as seen upon blood serum after 24 hours, with the opinion that the organisms of which it is composed are in a condition of degeneration." While the evidence at hand does not justify an opinion as to which of the forms of this organism, as usually observed, can be properly taken as a morphological criterion, it is certain that under standard conditions of cultivation dichotomous tendencies are very rarely exhibited.

We can scarcely consider the branching of this organism that has been observed in diseased tissues as occurring under conditions most

favorable to normal development, for the living tissues, even of susceptible animals, cannot be regarded as entirely passive to the invasion of infective agents; some degree of resistance is always offered and must be overcome before disease can progress. Concerning the presence of the branching forms in the diphtheric false membranes Bernheim and Folger (9) make the significant remark that they occasionally encountered membranes that were rich in the branching forms of *B. diphtheriae* but from which it was impossible for them to obtain a single living colony on blood serum, while from the diphtheritic exudates of other cases it was easily possible with the same blood serum to obtain colonies in large numbers, but they were usually of the short non branching forms of the bacilli. From this experience it seems fair to assume that, in some cases at least, the exhibition of this phenomenon in the tissues is indicative of either progressive degeneration, leading finally to the death of the organism or an inexplicable inability to develop upon a medium that is ordinarily best suitable to their growth.

From what was said above it is evident that the conditions which in our hands were most favorable to the development of budding and branching were such as to retard growth and to advance degeneration. Indeed, after so brief a period as 8 hours growth on the acid egg-bouillon mixture many cells that were unmistakably involuted could be found, and in the preparations made after 12 and 14 hours this was conspicuously the case. This, together with the fact that it was on this same medium that the branched forms were most numerous, inclines us to the opinion that degeneration or involution and the observed branching are probably dependent upon the same cause.

If the opinion is correct that budding and branching are indicative of degenerative changes, then we might reasonably expect to find those cultures in which this abnormality is most conspicuous to be of a lower degree of virulence than those from which it is absent. We undertook to settle this point experimentally but, to our surprise, the results were quite the contrary. The experiments having this object in view were briefly as follows:

Two cultures that had exhibited branching under the conditions noted above were selected. Their virulence under standard conditions of cultivation was determined. They were then cultivated upon the solidified, acid egg-bouillon mixture (acidity + 20 of Fuller's scale; acetic acid used) for 24 generations, each generation being allowed to develop for 24 hours before being transplanted to fresh medium. At the 4th, 8th, 12th, 16th, 20th and 24th days the virulence was tested by subcutaneous inoculation of guinea pigs, but in no case was either the period of incubation materially prolonged or the pathogenic lesions modified, notwithstanding the fact that from the beginning both branched and degenerated or involuted forms were to be seen in the cultures. In this connection it is also significant to note that both of these morphological abnormalities were much more conspicuous in the early than in the late generations and that there was a gradual diminution in their number as the cultivation was continued upon the acid-egg-bouillon medium, suggesting the likelihood of an adaptation to the unusual conditions under which they were being cultivated.

It was noted above that in those cultures in which branching or budding of the cells was most frequent it was equally common to observe in the cell at the point where the branch was given off an ac-

cumulation of deeply stained bacterial protoplasm and that this was often seen to continue into the newly formed bud or branch. It is impossible to decide as to the significance of this but it does not seem an untenable hypothesis to regard it as germinal protoplasm that, through osmotic disturbances consequent upon the new chemical conditions under which the cell finds itself, has broken through the cell at a point of least resistance and now develops in a lateral direction rather than in the long axis of the bacillus, as is usually the case. That the protoplasmic contents of bacteria may be in part or in whole extruded from the cell as a result of disturbances in osmosis has been abundantly proven by the exhaustive studies of Fischer (10) but whether protoplasm so extruded retains its vitality and is capable of subsequent development cannot at this time be said. Certain it is, however, that in the studies made by us the morphological changes noted are more directly connected with alterations in the chemical composition of the medium used than upon any other factor discoverable by us. And what is of equal moment, these changes — including, budding, branching, and evident degeneration of the cells, are much more conspicuous in the first transplantation to the acid-egg medium from the normal standard media than in the cultures that have grown for a time (20—40 generations) on the egg medium, and that have apparently become adapted to it.

The difficulties involved in reaching a conclusion on these questions are obviously considerable: we have no criterion for the normal (morphologically speaking) *Bacillus diphtheriae*; we are at a loss to interpret the striking morphological deviations observed in the organism when cultivated under various standard conditions, as for instance on agar agar, glycerine agar agar, Loeffler's serum and solidified egg albumin; we note no regular and corresponding physiological fluctuations under these several standard methods of cultivation; and in so far as its pathogenic properties are concerned, as evidenced by toxin production, there is not a regular parallelism between luxuriance of growth or peculiarity of morphology and the degree to which this function is manifested. Until the normal morphological status of this organism is established and the conditions best suited to its normal development are discovered many of these irregularities must remain without a correct interpretation.

We are far from convinced that these studies offer a final solution of the problem, but we believe that they throw some light upon certain phases of it, and trust that they may serve to invite the attention of other investigators to this confusing subject.

Conclusions.

From our studies of this subject we regard the following opinions as justifiable:

When grown under customary conditions on standard culture media branching is rarely exhibited by genuine *Bac. diphtheriae*; nor is its growth characterized by mycelial formation, as the word is ordinarily understood.

We do not think the evidence at hand warrants the classification of *Bac. diphtheriae* with the hyphomycetes.

We cannot regard the branching exhibited by *Bac. diphtheriae* as a phase of normal development but rather as an evidence of in-

volution or degeneration consequent upon development under unfavorable environment.

References.

- 1) Lehmann und Neumann, Atlas. Grundriß der Bakteriologie. 1896.
- 2) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 1897.
- 3) Migula, System der Bakterien. Bd. I. 1900.
- 4) Fraenkel, C., Eine morphologische Eigentümlichkeit des Diphtheriebacillus. (Hyg. Rundsch. Bd. V. 1895.)
- 5) Meyerhof, Zur Morphologie des Diphtheriebacillus. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1898.)
- 6) Skschirau, Zur Morphologie des Pestbakteriums. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900.)
- 7) Babes, Beobachtung über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung etc. der pathogenen Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895.)
- 8) Abbott, Journ. of Path. and Bact. 1893. October.
- 9) Bernheim und Folger, Ueber verzweigte Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XX. 1896.)
- 10) Fischer, Alfred, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900.)

Nachdruck verboten.

Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen).

Von Prof. Dr. H. Preisz in Budapest.

Mit 2 Tafeln.

Betrachtet man die Grenzen, innerhalb derer die Forschungen über Infektionskrankheiten und über alles damit Zusammenhängende sich bewegen, so muß man zugeben, daß das Hauptbestreben stets vorzüglich auf die Erkenntnis jener Veränderungen und Zustände gerichtet war, die im kranken Organismus durch die pathogenen Mikroorganismen hervorgerufen werden. Auch die Erklärung der Immunität suchte man hauptsächlich durch das Studium des immunen und immunisierten Organismus zu erreichen. Es kann aber dies auch niemand wunder nehmen, denn die selbstverständlich nächstliegenden und das Interesse der Forscher am meisten berührenden Fragen können sich ja tatsächlich nur darauf beziehen, durch welche Veränderungen denn gewisse Mikroben Krankheit und Tod hervorrufen, durch welche Unterschiede es denn bedingt ist, daß einem und demselben Mikroben gegenüber der eine Organismus sich empfänglich, der andere aber immun verhält.

Diese Richtung im Studium der Infektionskrankheiten muß um so natürlicher erscheinen, da ja doch zur Zeit, wo man die pathogenen Bakterien entdeckte, Anatomie und Physiologie sowie die Pathologie des Menschen und vieler Tiere schon verhältnismäßig weit vorgeschritten gewesen, während die neu entdeckten, in vieler Hinsicht fremden und unbekanntem krankheitsregenden Mikroben erst allmählich, zumeist mit Hilfe neu ersonnener Methoden, erforscht werden mußten; dazu kommt noch die Kleinheit dieser Mikroorganismen, die ihr eingehenderes morphologisches Studium in hohem Maße erschwert.

Wer aber wollte deshalb leugnen, daß für das Verständnis der Infektion, Immunität, Virulenz und Attenuation ein eingehendes Studium der Mikroben von gleicher Bedeutung sein könne, als jenes des infizierten Organismus? Die Redensart, wonach im infizierten Organismus sich ein Kampf entwickelt und abspielt zwischen ansteckenden Mikroben und angestecktem Tierkörper, ist nicht bloß ein gefälliges Gleichnis, sondern sie enthält die volle Wahrheit. Dringen Mikroorganismen in die Gewebe eines menschlichen oder tierischen Körpers, so geht entweder der letztere oder es gehen die Mikroorganismen zu Grunde. So wie aber der befallene Organismus während des Kampfes mehr oder minder tiefgreifende Veränderungen erkennen läßt, so müssen auch die Mikroorganismen unbedingt Veränderungen eingehen, die am ausgesprochensten sein müssen, wenn der Kampf mit dem Tode und der Zerstörung der Mikroben endet. Wenn auch gewisse hochgradig pathogene Keime, die den befallenen Körper sicher und schnell töten (wie z. B. die Bacillen der hämorrhagischen Septikämie), sich im infizierten Organismus schon von vornherein, ohne auf einen Widerstand zu stoßen und unbeschädigt, wie in irgend einer ihnen zusagenden Nährflüssigkeit, vermehren können, so verhält es sich in der Mehrzahl der Fälle doch anders, indem sich während der oft beträchtlichen Latenzzeit zwischen dem infizierten Organismus und den infizierenden Keimen ein Kampf abspielt, aus dem die Mikroorganismen mit bedeutsamen, zum Teil gewiß auch morphologischen Veränderungen hervorgehen können, die möglicherweise ein Licht werfen auf Verhältnisse bezüglich der Pathogenität, Virulenz und anderer Fragen. Die Erkenntnis solcher, man darf wohl sagen, pathologischer Veränderungen der Mikroben aber setzt unbedingt eine genaue Kenntnis ihrer normalen Eigenschaften voraus.

Wengleich ich soeben jene Gründe berührte, die mich zu den in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen veranlaßten, so darf ich doch wohl behaupten, daß je eingehendere Studien über morphologische und biologische Eigenschaften des Milzbrandbacillus auch an und für sich, ohne fernere Ziele, einer ernsten Arbeit würdig sind.

Bevor ich auf meine Untersuchungen übergehe, habe ich vorausszusprechen, daß ich hier stets von natürlichen Milzbrandbacillen sprechen werde, d. h. von solchen, die aus verschiedenen Milzbrandleichen auf günstigen Nährstoffen, ohne Einwirkung irgendwelcher schädlicher oder nachweisbar alterierender Einflüsse gezüchtet wurden, und zwar in allen Stadien ihrer Entwicklung, wie sie sich vom Beginn bis zum Erlöschen ihres Wachstums zeigen. Es werden sich zwar zwischen den Milzbrandstämmen verschiedener Herkunft nicht unerhebliche Unterschiede ergeben, die wohl den Schluß gestatten, daß die Eigenschaften der Milzbrandkeime auch unter natürlichen Verhältnissen variieren können, und die uns vielleicht veranlassen könnten, von typischen und atypischen Stämmen zu sprechen.

Ich muß ferner vorausschicken, daß, wo es sich um die Vergleichung verschiedener Stämme handelte, sowohl die Kulturen wie sämtliche mikroskopische Präparate stets unter ganz gleichen Bedingungen hergestellt wurden; die Kulturen wurden zu gleicher Zeit auf den gleichen Nährböden gezüchtet, die Präparate wurden mit gleichen Farblösungen behandelt, und bei der Prüfung im Trockenpräparate stets wenigstens 4 Stämme an einem Deckgläschen (an dessen 4 Ecken) gleichzeitig gefärbt und untersucht, so daß die gefundenen kulturellen, morphologischen und tinktoriellen Verschiedenheiten der untersuchten Stämme nicht auf

zufällige Verschiedenheiten der benutzten Stoffe oder des Verfahrens zurückgeführt werden können.

Den Gegenstand meiner Untersuchungen bildeten folgende 12 Stämme des Milzbrandbacillus:

I. vom Menschen, II. vom Pferd, III. vom Rind, IV. vom Schwein, V. vom Schaf, VI. vom Pferd, VII. und VIII. vom Rind, IX. vom Fohlen, X. vom Meerschweinchen eines Laboratoriums, XI. und XII. vom Pferd.

Es waren besonders die ersten 8 Stämme, die ich wiederholt in verschiedenem Alter vergleichend prüfte.

I. Ueber gewisse kulturelle Eigenschaften des Milzbrandbacillus. Sekundäre Kolonien.

Ich beschränke mich hier auf die Beschreibung gewisser, bisher unbekannter Eigenschaften der Kulturen des Milzbrandbacillus auf festen, durchsichtigen Nährböden, die nicht verflüssigt werden. Es sind dies zumeist schon mit freiem Auge gut sichtbare kulturelle Merkmale, die insofern von Bedeutung sind, weil sie mit gewissen Veränderungen der Bacillenform selbst konstant Hand in Hand gehen und den Entwicklungsgang dieses Bacillus auf künstlichen Nährstoffen beleuchten.

Diese kulturellen Eigenschaften lassen sich am besten veranschaulichen auf gewöhnlichem, schwach alkalischen Agar (mit Fleischbrühe, Pepton, NaCl bereitet).

Auf der mit Milzbrandblut besäten Agarfläche kommt es bei 37° C bekanntlich schon innerhalb 24 Stunden zur Entwicklung eines ausgedehnten Rasens, bzw. zur Bildung bis zu linsengroßer Kolonien. Solche frische Kolonien sind grau- oder schmutzigweiß, ihre Oberfläche ist uneben, grobkörnig, glanzlos, ihre Ränder sind zart und gezackt, oft mit feinsten geschnörkelten Ausläufern besetzt. Von rückwärts (im durchfallenden Licht) betrachtet, ist eine solche Kultur grob gestrichelt, d. h. sie bietet ein Durcheinander von weißlich-undurchsichtigen und bläulich-durchsichtigen Fleckchen und Strichelchen. Diese Zeichnung ist dadurch bedingt, daß die aus Bacillenfäden bestehenden, zopfartigen Bacillenbündel sich vielfach krümmen und verschlingen; je nach Verlauf ihrer Fäden lassen die einen Wellen das Licht ins Auge fallen, die anderen aber lenken es ab. Die Strichelung ist an dünnen Kolonien sowie an den Rändern der Kolonien am ausgesprochensten.

Schon an 1-tägigen Kulturen verschiedener Stämme macht sich zuweilen ein Unterschied merkbar; der gestrichelte Bau kann grob oder feiner, scharf ausgesprochen oder verschwommen sein, die Kultur kann in durchfallendem Lichte bläulich oder weißlich, ihre Oberfläche kann mehr oder weniger rau sein.

In den folgenden Tagen, noch mehr nach 1—2 Wochen, verliert sich der gestrichelte Bau immer mehr und mehr, fast bis zum Schwund; dafür nimmt der Rasen (besonders am unteren, feuchten Teile des Agars) eine mehr oder minder ausgesprochene weiße Färbung an. Bei sehr schwacher Sporenbildung (Stamm IV) wird die Kultur nicht weiß, sondern bläulich durchscheinend.

Selten sah ich vom oberflächlichen Rasen der Milzbrandkultur in die Tiefe des Agars ein ziemlich dichtes Mycel hineinwuchern, so wie man es bei Streptotricheen zu sehen gewohnt ist.

Das geschilderte Aussehen der Agarkulturen beginnt schon nach

einem oder nach einigen Tagen sich wesentlich zu verändern; aus der rauhen, glanzlosen Oberfläche des Rasens erheben sich — selten bereits zu Ende des 1. Tages, zumeist aber erst am 2.—3. Tage, ausnahmsweise erst nach einer Woche — feine Knötchen von der Größe eines Sandkornes, die sich allmählich vergrößern, die aber den Durchmesser eines Hanfkornes oder einer kleinen Linse selten überschreiten; sie sind zumeist halbkugelig erhaben, mit glatten Rändern, glatter Oberfläche und von weißlicher, selten von gelblicher oder gelblich-grünlicher Farbe. Nicht selten breiten sich diese Knötchen seitwärts aus, jedoch nie über einen Durchmesser von wenigen Millimetern, und verleihen dadurch der Kultur ein Aussehen, als hätten sich am ursprünglichen Kulturrasen Kolonien irgendwelcher fremder Keime entwickelt.

Diese Gebilde, die ich „sekundäre Knötchen“ oder „sekundäre Kolonien“ nennen werde, können im Verlaufe ihrer weiteren Entwicklung verschiedene Veränderungen erfahren. Das Zentrum der anfangs undurchsichtigen Knötchen leuchtet sich, es wird durchscheinend; bei größeren Knötchen ist dieses durchscheinende Zentrum nicht selten sternförmig. Oft entstehen aber auch ohne eigentliche Knötchenbildung im primären Rasen kleine durchsichtige Pünktchen, umgeben von einem weißen, wenig erhabenen Hofe, als wäre die Substanz des primären Rasens vom durchscheinenden Zentrum nach der Peripherie verdrängt worden.

Die sekundären Kolonien besitzen zuweilen einen geringelten Bau, nämlich ein erhabenes, weißes Zentrum, umgeben von einer ringförmigen Vertiefung, nach außen abermals von einem dickeren Walle; auch hier kann das Zentrum durchscheinend werden.

Nicht eben selten kommt es vor, daß nach Wochen und Monaten aus der Oberfläche der sekundär entstandenen Knötchen und Kolonien abermals ähnliche Knötchen herauswachsen, wodurch jene ein warziges Aussehen erhalten. Ich bezeichne diese Knötchen als tertiäre Kolonien.

In Betreff des Alters der Kulturen, wo die sekundären Erscheinungen auftauchen, sowie hinsichtlich der Anzahl und Größe der sekundären Kolonien unterscheiden sich die verschiedenen Stämme nicht unwesentlich voneinander. Im allgemeinen treten sekundäre Kolonien um so früher und reichlicher auf, je rascher und reichlicher der betreffende Stamm Sporen entwickelt hat. Nicht an allen Stämmen treten sämtliche sekundäre Erscheinungen auf; sind sie aber alle vorhanden, so verleihen sie der Kultur durch ihre Unebenheit und verschiedene Färbung ein sehr buntes Aussehen, das viel mehr an eine Mischkultur als an eine Reinkultur mahnt.

Während beim Stamme No. I die sekundären Knötchen sich bereits an einer 20-stündigen Kultur bemerkbar machten, kamen sie bei Stamm IV erst nach Verlauf einer Woche zum Vorschein; desgleichen zeigten sich bei Stamm IV durchscheinende Punkte erst nach mehreren Wochen, während solche bei anderen Stämmen schon nach 2—3 Tagen sichtbar wurden.

Die Konsistenz ganz junger Agarkulturen ist eine zähe; sie ist bedingt durch die Verflechtung der langen Bacillenfäden und verliert sich später, je nach Weiterentwicklung der Bacillen, entweder ganz oder nur bis zu einem geringeren Grade.

Wodurch die verschiedenen Entwicklungsphasen der Kulturen bedingt sind, läßt sich durch die mikroskopische Untersuchung unschwer erkennen.

Der primäre Rasen behält seine grauweißliche Farbe, das durchscheinende, gestrichelte Gefüge und seine zähe Konsistenz so lange, bis alle Bacillen oder mindestens eine beträchtliche Anzahl derselben Sporen gebildet hat. Ist aber letzteres erfolgt, so zerfallen die Fäden und damit verliert sich die Zeichnung und die zähe Konsistenz; zugleich wird der Rasen weiß, denn während die Bacillenfäden weniger lichtbrechend, daher durchscheinend sind, wirken die stark brechenden Sporen, vermengt mit Membran- und Zellresten von Bakterien, nach Art einer Emulsion, der Rasen ist somit bei auffallender Beleuchtung mehr oder minder weiß, nicht selten kreidefarbig.

Die sekundären Kolonien (Knötchen und durchscheinende Flecke) verdanken ihre Entstehung der Auskeimung und Wucherung von Sporen; es sind Kolonien, die am primären Rasen, aus Sporen desselben hervorgegangen sind, Kolonien zweiter Generation aus den erstgebildeten Sporen.

Als Beweise dafür, daß die sekundären Kolonien sich aus Sporen entwickeln, führe ich folgende an:

1) Je rascher und reichlicher ein Stamm Sporen bildet, um so rascher und reichlicher entwickelt er Sekundärkolonien und umgekehrt;

2) wird eine junge Agarkultur, die schon reichliche Sporen, aber noch keine sekundären Knötchen besitzt, eine Stunde lang auf 65° C erwärmt, wodurch alle vegetativen Zellformen abgetötet werden, so wachsen aus einem solchen primären Rasen später sekundäre Kolonien aus;

3) künstlich abgeschwächte asporogene Stämme bilden keine Sekundärkolonien.

Es ist wohl gestattet, per analogiam zu schließen, daß die aus sekundären Kolonien zuweilen auswachsenden tertiären Knötchen aus Sporen der sekundären Kolonien hervorgehen.

Die Entstehung der durchscheinenden Flecke in der primären Kulturfläche oder im Zentrum der sekundären Kolonien beruht auf der Auskeimung einzelner Sporen zu einem frischen Rasen, bestehend aus jungen Bacillen verschiedener Gestaltung. Ein solcher sekundärer Rasen verdrängt den zufolge seines Sporengehaltes weißlichen, primären Rasen peripheriewärts, daher der weißliche Ring um die durchscheinende Sekundärkolonie. Erfolgt in der letzteren eine rege Vermehrung der Zellen und Sporenbildung oder massenhafte Bildung säurefester Körper (siehe im mikroskopischen Teile), so wird die sekundäre Kolonie (die sich anfangs als durchscheinender Punkt präsentierte) zu einem stark erhabenen und weißen Knötchen. Oft sind sekundäre Kolonien von so zäher Konsistenz, daß sie sich mit der Nadel leicht in toto von der Kulturfläche abheben lassen. Bleibt hingegen eine solche durchscheinende Sekundärkolonie im Wachstum zurück, ohne Sporen oder säurefeste Körper zu erzeugen, so erhebt sie sich auch nicht über das Niveau der primären Kulturfläche, sondern sinkt im Gegenteil infolge von Austrocknung unter dasselbe.

Die Bacillen der sekundären Kolonien haben ein von den primären Bacillen wesentlich verschiedenes Aussehen (siehe die Abbildungen Fig. 98—110 und die mikroskopischen Befunde).

Diesen geschilderten Veränderungen gegenüber behalten Agarkulturen von sehr langsam und spärlich sporenbildenden Stämmen (IV, V) ihr ursprüngliches Aussehen, Farbe und Struktur längere Zeit; der Rasen wird nicht weiß, sondern gewöhnlich durchscheinender, dünner

und bläulich, die Strichelung aber verliert sich oft gänzlich; desgleichen tauchen sekundäre Knötchen und Kolonien bedeutend später, erst nach 6—8 Tagen, und nur spärlich auf.

Es soll hier bemerkt sein, daß ich unter allen untersuchten Stämmen keinen einzigen asporogenen fand; wohl aber war die Sporenbildung bei IV und V fast erloschen, denn man mußte an Präparaten auch aus älteren Kulturen nach vereinzelt Sporen oft mühsam suchen.

Es ist selbstverständlich, daß sich letztere Stämme von energischen Sporenbildnern auch mikroskopisch gründlich unterscheiden müssen. Der Rasen typisch sporogener Stämme (z. B. des Stammes I) besteht schon nach 2 Tagen fast ausschließlich aus freien Sporen.

Bei schwachen Sporenbildnern (IV) ist und bleibt das Bild ein wesentlich verschiedenes. Die Bacillen bleiben lange Zeit, Wochen und Monate, zu Ketten vereint, zwar tauchen in ihnen säurefeste Körper auf (siehe später), diese aber bleiben in ihrer Entwicklung zurück und die überwiegende Mehrzahl der Bacillen bleibt dem Untergang geweiht; dies gibt sich schon an 2—3-tägigen Kulturen daran zu erkennen, daß ein Teil der Ketten sich schwach färbt und die zumeist abnorm langen Bacillen zerklüftet und schollig erscheinen; andere Fäden hingegen, oder nur Teile von solchen, sind tief gefärbt, stark gequollen, mit spindel- und tonnenförmigen, entarteten Bacillen. Nach Wochen und Monaten zerfällt gewöhnlich die Zellmembran, wodurch die kaum mehr gefärbten, scholligen Bacillen und Trümmer von solchen frei werden. Auch nach so langer Zeit ist es oft unmöglich, unter den zumeist zahlreichen, nicht selten sporenhähnlichen, säurefesten Körperchen eine Spore zu finden.

Die Erscheinung sekundärer Kolonien habe ich auch bei vielen anderen, nicht sporogenen Bakterien schon längst beobachtet; sie machten auf mich, wie wohl auf jeden, der sie noch nicht kennt, den Eindruck fremdartiger Kolonien; durch Kulturverfahren aber kann man sich leicht davon überzeugen, daß diese sekundären Kolonien von der ursprünglichen Species gebildet werden. Ich mußte annehmen, daß es einzelne besonders lebenskräftige und widerstandsfähige Keime gebe, die, nachdem der Kulturrasen sein maximales Wachstum erreicht hat, noch im stande sind, frische, oft sehr reichliche, prominente Kolonien zu erzeugen.

Ich habe an verschiedenen, auf schrägem Agar gewachsenen Stämmen des Diphtheriebacillus die Lebensfähigkeit des primären Rasens und der sekundären Knötchen miteinander verglichen und gefunden, daß in Agarkulturen vom Alter zwischen 66 und 132 Tagen der primäre Rasen abgestorben, die sekundären Kolonien hingegen noch lebend waren.

Ueberimpfungsversuche von einer 24-tägigen Kultur des Cholera-spirillums und einer 7½ Monate alten Kultur des Finkler-Prior-schen Spirillums ergaben Kulturen aus den sekundären Knötchen, während die primäre Kulturfläche sich als abgestorben erwies.

Ich erblicke hierin einen Beweis dafür, daß asporogene Bakterienarten auserlesene Individuen aufweisen können, deren Lebenskraft jene der Durchschnittsindividuen weit übertrifft, und vielleicht erklärt es sich hieraus, daß die Angaben über die Tenazität so mancher asporogener Bakterien oft sehr auseinandergehen.

II. Literaturangaben über den feineren Bau des Milzbrandbacillus.

Der Schilderung meiner Forschungsergebnisse sende ich im folgenden das Wichtigste voran, was über den feineren Bau des Milzbrandbacillus bekannt geworden.

Eine der ältesten Angaben über den feineren Bau des Milzbrandbacillus ist jene von Schottelius, der in frischen, ungefärbten Bacillen einen zentral gelegenen, stäbchenförmigen Kern, ja sogar eine Art von Granulierung dieses Kernes beobachtete; auch eine Einschnürung und Teilung dieses Kernes und die Entstehung neuer Querscheidewände in den Bacillen beobachtete Schottelius (1888).

Nils Sjöbring (1892) sah in Milzbrandbacillen rundlich-ovale, von ihm Kerne genannte, etwa die Hälfte des Bacillus einnehmende Bildungen, und in diesen nach Färbung mit Karbolmethylenblau dunkle Körnchen verschiedener Größe, dazwischen auch an den Enden verdickte Fädchen oder hantelförmige Figuren (siehe Fig. 226).

Ilkewicz (1894) berichtet „über die Kerne der Milzbrandsporen“, die er nach einer Kolossowschen Methode (Osmium, Tannin) sichtbar machte; seine Abbildung zeigt schwarz gefärbte Bacillenfäden (Ketten oder lange Einzelzellen?) mit runden und ovalen, hellen Flecken, in letzteren oft mit einem oder zwei dunkeln „Kernen“. Ilkewicz sah solche kernhaltige Sporen auch in Teilung begriffen und nimmt an, daß die kernlosen das Stadium der beginnenden Teilung darstellen (siehe Fig. 231).

Klett (1894) machte in Milzbrandbacillen ein „Kernstäbchen“ sichtbar, indem er Milzbrandblut am Deckglase einen Tag trocknen ließ und nachher mit Fuchsin (1 Fuchsin + 10 Alkohol + 100 Wasser) färbte.

Bunge (1895) berichtet, in Milzbrandbacillen keine Ernstschen Körnchen gefunden zu haben; dagegen sah er nach Färbung mit Karbol-fuchsin und Entfärbung durch 5-proz. Schwefelsäure dunkelrot gefärbte Körnchen und Kügelchen (siehe Fig. 228, 229, 230). Bunge nennt diese roten Körperchen „Vorsporen“ und behauptet, daß die großen Kügelchen durch Verschmelzung der kleineren entstehen, nicht aber umgekehrt. In nach dieser Methode und nachher mit wässrigem Methylenblau gefärbten Präparaten eines anderen Bacillus (Erdebacillus) sah er neben der blau gefärbten Spore noch rote Körnchen; diese seien zum Aufbau der Spore unbenutzte, überschüssige Körper, die ebenso wie der übrige Zellkörper, nach Vollendung der Sporulation zu Grunde gehen. Ferner meint Bunge, daß die Bacillen mit großen, roten Körpern noch teilungsfähig seien, in dem er sagt: „Ich glaube, in einigen Fällen dies auch aus gefärbten Präparaten mit Sicherheit schließen zu können“. Bunges Vorsporen widerstehen im Gegenteil zu den Ernstschen Körperchen der Siedehitze.

Löwit (1896) bildet Milzbrandbacillen ab mit einem hellen Körper von $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ Durchmesser des Bacillus und in ihm einen dunklen Punkt (siehe Fig. 225); er erhielt diese Bilder mittels einer ziemlich komplizierten Methode: Beizen in Kupfertannin, Färben in heißem Anilinwasserfuchsin, Entfärben in Salzsäurealkohol.

Ružička (1898) sah in 1-tägigen Agarkulturen (nach Fixierung des noch nicht luftgetrockneten Präparates mit HgCl_2 , Färbung mit Methylenblau, Entfärbung mit angesäuertem Wasser) kleine Körnchen, eines oder mehrere in einer Zelle (Fig. 232, 233); er hält sie für verschieden von den Babes-Ernstschen und Sjöbrings Körnchen.

Zettnow und Feinberg (1899, 1900) sahen nach Romanowski-scher Färbung (Methylenblau + Eosin) in Milzbrandbacillen große, unregelmäßig geformte und gelagerte rote Körper (siehe Fig. 234); Feinberg hält sie für Kerne.

Krompacher (1901) beschreibt Körnchen, die sich mit Karbol-methylenblau metachromatisch, d. h. intensiv rot färben und hitzebeständig sind; vorerst erscheint der mittlere Teil der Bacillen (den wässrige Anilinfarben nicht färben) diffus rötlich, vom 2. Tage an birgt er ein intensiv rotes Körnchen; „durch Vermehrung dieser Körner in den folgenden Tagen erhält man Bilder, in denen innerhalb des stark gequollenen ovalen Bacillus zwei oder mehrere, oft zahlreiche Körner enthalten sind. Nach Zugrundegehen des Plasmas werden die Körnchen frei, so daß vom 4.—5. Tage an zahlreiche Körnchenhäufchen von der Größe eines Blutkörperchens zwischen den sporenbildenden Bacillen zu finden sind“ (siehe Fig. 235—238). An Präparaten, mit Karbofuchsin und schwefelsäure behandelt, sah Krompacher schon am 1. Tage Bungesche Körperchen, am 3.—4. Tage bereits runde und eckige Schollen von der Größe eines Blutkörperchens. Letztere sind zuweilen fein granuliert oder enthalten einen oder mehrere schwarzrote Körner. Sowohl neben den metachromatischen wie neben den Bungeschen Körnern konnten oft unzweifelhafte Babes-Ernstsche Körperchen nachgewiesen werden.

Krompacher untersuchte zahlreiche Mikrobenarten auf ähnliche metachromatische Körner, konnte solche aber nur bei zwei Bacillen (*B. anthracoides* und *B. concentricum*) nachweisen; er meint, ohne es sicher zu behaupten, daß diese metachromatischen Körnchen in irgend welcher Beziehung zur Sporenbildung stehen, hierfür sprächen 1) der Umstand, daß er diese Körnchen bisher nur bei sporentragenden Bacillen fand, 2) die Resistenz der Körnchen gegen Hitze, 3) gleichzeitiges Auftreten mit den Bungeschen Körnchen, 4) die gleichzeitige Umwandlung der metachromatischen Körnchen zu Körnchenhaufen und der Bungeschen Körnchen zu diffus färbbaren Schollen nahezu gleicher Größe.

Krompacher erwähnt ferner in dieser Arbeit, daß Sporen (des Milzbrandbacillus) auf demselben Nährboden keimen, wo sie sich entwickelt hatten, und schießt dies daraus, daß eine Agarkultur, wo er vom 8.—16. Tage ausschließlich Sporen fand, am 16. Tage eine Menge junger Bacillen enthielt.

Zur letzteren Angabe Krompachers möchte ich, um hierauf nicht zurückkommen zu müssen, bemerken, daß die am 16. Tage massenhaft gefundenen Bacillen wahrscheinlich mit den von mir als sekundäre bezeichneten Bacillen identisch waren; daß aber diese jungen Bacillen tatsächlich durch Auskeimung der ebendort gebildeten Sporen entstanden sind, dafür fand ich in seiner Abhandlung keine Beweise, da sie ja auch aus vegetativen Zellen entstehen konnten, die zwischen den Sporen, wenn auch noch so spärlich, vorhanden sein konnten.

Nakanishi (1901) bediente sich beim Studium des Baues der Bakterien einer eigenen Methode (ein Tropfen der die Bakterien enthaltenen Flüssigkeit wird auf ein Deckgläschen gebracht und dieses auf ein mit einer ganz dünnen, angetrockneten Methylenblauschicht überzogenes Objektglas umgelegt) und schreibt über den Milzbrandbacillus folgendes. Das Cytoplasma ist in der Regel homogen; häufig trifft man Zellen mit unregelmäßig verdickter (schleimig degenerierter) Membran,

sie haben einen kleinen, länglichen Kern. Außer ungefärbten Sporen finden sich auch schwach gefärbte, mit 1—2 punktförmigen Kernen versehene (keimende), ferner dunkel gefärbte, aber kernlose Sporen. Die Spore besitzt ein starkes Endosporium und ein zartes Ektosporium. Bei Keimung der Spore ist das Endosporium nicht mehr nachweisbar. Die Keimlinge besitzen einen stäbchenförmigen oder einen eingeschnürten oder bereits zwei Kerne, aber noch keine Membran; ihr Endoplasma färbt sich dunkel, ihr Endoplasma fast gar nicht. Gleichzeitig mit der Zellteilung, oder noch etwas früher, teilen sich auch die Kerne. In Betreff der Sporenbildung bei einem energisch sporenbildenden Stamme sagt Nakanishi von einer 8-stündigen Kultur: „In einer Hälfte des Stäbchens befindet sich ein heller, unregelmäßig länglich-oval gestalteter, nicht scharf begrenzter Fleck, in welchem ein kleiner Kern das Zentrum bildet (der Beginn der Sporenbildung). Das Cytoplasma ist an der Peripherie der Zelle und an der Umgebung des Fleckchens intensiv gefärbt. In der anderen Hälfte ist ebenfalls ein Kern nachweisbar, nämlich dann, wenn das Cytoplasma daselbst nicht tief gefärbt ist.“ „Der helle Fleck im Stäbchen hat an Größe zugenommen, nimmt jetzt ungefähr $\frac{2}{3}$ der Länge und $\frac{2}{3}$ der Breite des Stäbchens ein — bald färbt sich die mittlere Region des hellen Fleckes blau und hebt sich als ein nicht scharf begrenzter, blauer Fleck von der Umgebung ab. Diesen blauen Fleck will ich als Sporenanlage bezeichnen (Fig. 3b', Taf. V)“ (siehe auch Fig. 239—243).

Ich muß noch folgende Stelle aus Nakanishis Arbeit wörtlich wiedergeben, da ich mich bei meinen Schlüssen darauf werde beziehen müssen. „Der helle Fleck im intensiv gefärbten Stäbchen ist auch sehr gewachsen und regelmäßig gestaltet. Der Kern darin ist deutlich nachweisbar, er erscheint in der Mitte eines Fleckes als feines, rotes Stäbchen. Ein solcher Fleck wird auch nachher intensiv blau gefärbt. Die weitere Veränderung des Sporangiums besteht wesentlich im Wachsen der Spore, namentlich in die Breite“ etc. Seine Resultate zusammenfassend, drückt es sich über das Wesen der Sporenbildung folgendermaßen aus: „Im wesentlichen handelt es sich bei der Sporenbildung um nichts weiter, als um eine intracelluläre Einkapselung des Kernes und des verdichteten perinukleären Cytoplasmas. Bei den mehrkernigen Bakterienzellen nimmt der eine Kern, bei den Zellen mit einem langen Kernstäbchen aber ein Teil davon an der Sporenbildung teil.“

In einer kritischen Zusammenfassung bemerkt Nakanishi, daß Schottelius' Befund in Betreff des Zellkernes im großen und ganzen mit seinem übereinstimmt; „indes kann ich aber sein Kernstäbchen und den Kern von mir nicht für identisch erklären, da es mir in den meisten Fällen nicht gelang, den Kern im ungefärbten Zustande zu sehen, wie es bei ihm der Fall gewesen sein sollte“.

Daß die von ihm als Kerne gedeuteten Gebilde tatsächlich Kerne sind, begründet Nakanishi mit der größeren Affinität dieser Gebilde für Farbstoffe, ferner damit, daß die Teilung der Bakterienzelle stets von derjenigen dieses kernartigen Gebildes begleitet wird und niemals die Teilung der Zelle ohne vorangehende Teilung des kernartigen Gebildes vorkommt, und endlich mit der größeren Widerstandsfähigkeit der Gebilde im Vergleiche zum Protoplasma der Zelle.

III. Mikroskopische Untersuchung.

1. Frisches Material in dünnen Farblösungen.

Bei der Untersuchung frischen Materials bediente ich mich verschiedener, stark verdünnter Farbstoffe, stets vor dem Gebrauche hergestellt.

Die besten Dienste leistete mir Fuchsin, zumeist nach folgender Vorschrift:

Konzentrierte aliholische Fuchsinlösung	2,0
Konzentrierter Alkohol	10,0
Destilliertes Wasser	10,0

Zum Gebrauche wird 1 Teil dieser Lösung mit 20--30 Teilen destillierten Wassers genommen.

Auch heißgesättigte Lösung von Fuchsin in physiologischer Kochsalzlösung, nach Erkalting filtriert, kann gute Dienste leisten; sie zersetzt sich jedoch sehr rasch.

Das Methylenblau wandte ich in wässriger Lösung an (1 Teil konzentrierter wässriger Lösung von Methylenblau med. pur. auf 20 bis 50 Teile destillierten Wassers) oder gelöst in physiologischer Kochsalzlösung.

Auch sehr stark verdünnte Anilinwassergentiallösung gebrauchte ich mit gutem Erfolge. Aehnlich gute Dienste leistete auch Formolfuchsin. Man gebe in 1--2-proz. wässrige Formaldehydlösung einige Tropfen alkoholischer Fuchsinlösung bis zu heller Rotweinfarbe.

Das befolgte Verfahren bestand einfach darin, daß ich einige Oesen der Farblösung auf ein Objektglas brachte, dann das Kulturteilchen darin mittels einer Nadel zerrieb, dann bedeckte und untersuchte.

Die Beschreibung der Ergebnisse meiner mikroskopischen Untersuchungen beginne ich mit den Sporen.

Mit Wasser aufgeschwemmte Sporen einer älteren Agarkultur bestehen aus dem stark lichtbrechenden, gelbgrünlichen, eigentlichen Sporenkörper und aus einer Hülle (Schale); die äußerste Schicht des Sporenkörpers ist nicht selten bräunlich, und zwar nach außen scharf begrenzt, nach innen etwas verschwommen. Die äußere Grenze der Hülle gibt sich durch eine feine Linie zu erkennen, die die Spore an einem oder an beiden Polen in einem größeren Abstände, seitwärts aber zumeist knapp anliegend umsäumt. Die Pole der Sporen sind sonach von halbmondförmigen Kappen, den breitesten Stellen der Hülle, besetzt.

Von einer Duplizität der Sporenhülle, wie sie Nakanishi angibt, konnte ich mich nicht überzeugen; es läßt sich zwar leicht nachweisen, daß Farbstoffe oft die Peripherie des Sporenkörpers (die auch ungefärbt dunkler erscheint) färben, während die Hülle ungefärbt bleibt. Diese Erscheinung aber beweist noch nicht, daß zwischen der Spore und der äußeren Hülle noch ein Häutchen existiert, denn dieser gefärbte Ring kann ebensogut die innere Schicht der einfachen Hülle oder die äußere des Sporenkörpers sein. Ein unzweifelhafter Beweis einer doppelten Sporenhülle wäre das Abwerfen zweier Häutchen beim Keimen der Sporen, wie es Burchard beim *Bacterium Petroselini* beobachtete; Aehnliches habe ich aber beim Auskeimen von Milzbrandbacillen nie gesehen¹⁾.

1) Die von mir beobachtete Entwicklung der Spore (s. später) würde der Existenz einer doppelten Sporenhaut nicht widersprechen. Die Sporenschale entsteht nämlich

Bringt man Sporen in einige Millimeter hohe Schicht von Bouillon oder auf die Oberfläche von Agaragar, und verfolgt man ihr Verhalten von Stunde zu Stunde, indem man kleine Mengen am Objektglase mit einigen Oesen stark verdünnter Methylenblaulösung vermengt, so erhält man folgende Bilder.

Nach Verlauf von einer Stunde sind viele Sporen bereits glanzlos, gequollen und gefärbt; die Hülle ist undeutlich oder gar nicht sichtbar, wahrscheinlich deshalb, weil sie durch den inneren Druck stark gespannt und verdünnt ist. Auch gibt es neben ovalen Formen schon längliche, plumpe Stäbchen. Alle diese im Auskeimen begriffenen Sporen haben eine dunkelgefärbte Rindenschicht (Wandbelag) und ein helleres Innere; im letzteren liegt ein dunkel gefärbtes Körperchen, rundlich oder stäbchenförmig, zuweilen mit Einschnürung (siehe Fig. 60—62).

Gegen Ende der zweiten Stunde finden sich außer noch unveränderten Sporen bereits mehrzellige Keimlinge mit abgerundeten Enden. Auch hier ist die Rindenschicht des Protoplasmas (Ektoplasma) dunkel, das innere Plasma aber heller gefärbt; in längeren Keimlingen wird das Endoplasma durch Vorsprünge des Ektoplasmas eingeschnürt oder durch dunkle, breite Plasmabrücken in Fächer geteilt; das helle Endoplasma jedes Abschnittes beherbergt einen punkt-, doppel- oder stäbchenförmigen dunkeln Körper (= Nakanishis Kerngebilde) (siehe Fig. 63 bis 66, 76—78).

Ein Vergleich dieser Bilder mit den durch verdünntes Fuchsin gefärbten Präparaten zeigt, daß die durch Methylenblau dunkel gefärbte Außenschicht und die ziemlich breiten Plasmabrücken durch die Zellmembran und die ihr knapp anliegende Plasmaschicht gebildet werden, welche letztere durch die verdünnte Fuchsinlösung nicht gefärbt wird.

In diesem Stadium, d. h. in der 2.—3. Stunde, bietet sich oft Gelegenheit, den Austritt der Keimlinge aus der Sporenschale zu sehen; das eine Ende eines längeren Keimlings oder das eine Endglied eines jungen Zellverbandes steckt oft noch halb in der Sporenhaut; wo die Zelle durch die Öffnung der letzteren tritt, ist sie manchmal eingeschnürt; ein anderes Mal sitzt jedem Ende des Keimlings je eine Hälfte der Sporenhaut wie eine Kappe auf (siehe Fig. 5—6).

In Fuchsin färbt sich das Plasma der gequollenen Sporen sowie das der Keimlinge ganz blaßrot und gleichmäßig, ohne Unterschied von Ekto- und Endoplasma.

Sowohl die gequollenen Sporen, als auch die der Sporenhaut entschlüpften ein- und mehrzelligen Keimlinge enthalten in je einer Zelle ein oder zwei (selten mehr) dunkelrot gefärbte, runde Körnchen von ziemlich gleicher Größe, oft von einem hellen Hofe umgeben; sie liegen fast ausnahmslos im peripherischen Plasma, an der Zellmembran, häufig in einer Ecke der Zelle, d. h. nächst der Querwand; zuweilen finden sich auch längliche, eingeschnürte Formen (siehe Fig. 1—3, 7, 54).

Die Zellmembran ist in den ersten Stunden zumeist äußerst zart, nicht dunkler gefärbt; um so auffallender ist es, wenn einzelne Glieder mancher junger Ketten ein entschiedenes, dunkel gefärbtes Häutchen

aus der äußeren Schichte der Vorspore; da aber die Vorspore bereits eine dünne Membran besitzt, so wäre es möglich, daß diese letztere an der reifen Spore als ein dünnes äußeres Häutchen erhalten bleibt, während aus der ihr anliegenden Zone der Vorspore die innere dickere Schicht der Sporenschale entsteht. Eine solche Schichtung der Sporenschale konnte ich jedoch nicht sehen.

aufweisen und infolgedessen auch etwas plumper erscheinen, als die übrigen Glieder der Kette (siehe Fig. 8).

Der Quere nach ist die Gliederung der Ketten entweder eine vollendete oder eine unvollendete. Bei der vollendeten sind die einander zugekehrten schmalen Flächen der Bacillen, ebenso wie die äußeren langen Seiten, durch je eine scharfe Linie gekennzeichnet, die einander nicht berühren, da zwischen ihnen ein schmales, ungefärbtes Spatium bleibt (siehe Fig. 7). Letzteres ist zweifellos erfüllt durch die Zellen der Quere nach zusammenkittende äußerste Schicht der Membransubstanz.

Die unvollendete Querteilung erscheint in Gestalt zumeist allerfeinster, stärker als das Plasma gefärbter Linien, die besonders in der mittleren Gegend längerer Zellen den Zellkörper durchsetzen, ohne daß zugleich an den Seitenwänden der Zelle eine Einschnürung, Einkerbung oder sonst eine Andeutung einer Teilung zu bemerken wäre (siehe Fig. 4, 9, 13 u. a.).

Es war ein häufiger Befund, daß eine solche Querlinie mit einem roten Körnchen (wie ich sie soeben beschrieb) eng verschmolzen oder ein solches zu halbieren schien (Fig. 8, 9, 13); dagegen glückte es mir selten, solche Formen zu sehen, wo gleichzeitig mit einer — ein Körnchen durchziehenden — Querlinie an der einen Seitenwand der Zelle eine Einkerbung als Beginn einer vollendeten Zweiteilung zu erkennen war, oder wo neben einer unverkennbaren Querteilung des Zelleibes das Zellenpaar durch ein hantelförmiges Körnchen noch zusammenhing, oder vielmehr die Querscheidewand durch letzteres zog (Fig. 10, 11). Als jüngste Stadien von Querscheidewänden betrachte ich stark gefärbte, zapfenartige Vorsprünge an der Innenfläche der Seitenwand, die einander gegenüberstehen, ohne einander zu erreichen (Fig. 12).

Im folgenden ändert sich das Bild durch das Auftreten stark lichtbrechender Körnchen und Kügelchen, die sich nach dem erwähnten Fuchsin- und Methylenblaufverfahren nicht färben, ferner durch die Sporenbildung; auf beide komme ich später zurück.

Ich muß hier bemerken, daß die Keimlinge der ersten Stunden die Farbstoffe bekanntermaßen sehr gierig aufnehmen, weshalb zu ihrer Untersuchung die gewöhnlichen Lösungen noch mehr verdünnt werden müssen.

Abgesehen von den Vorgängen der Sporenbildung und den glänzenden Kügelchen, ändert sich die Struktur der Bacillen in Fuchsinlösung in den späteren Stunden unwesentlich; dagegen ist das Verhalten von 10—20-stündigem Materiale bei Methylenblaufärbung (gleichviel ob nach Nakanishi oder in dünner Lösung gefärbt) sehr ungleichmäßig. Die bereits beschriebenen, zentral gelegenen, dunkeln Körperchen (Nakanishis Kerne), die in Keimlingen der ersten Stunden unschwer zu sehen sind, finden sich da nur vereinzelt in Zellen mit dunklem Ektoplasma; viele Zellen sind, abgesehen von der gefärbten Membran, fast farblos und enthalten (außer einem oder mehreren glänzenden Körperchen) in der Achse der Zelle oder seitlich davon gelegene, ganz regellos gestaltete, blaue Körnchen, Flöckchen, selten Stäbchen, oft aber auch gar keine blaue Substanz (Fig. 67—69, 74, 75).

Von jenen zumeist wandständigen Körnchen, die, mit Fuchsin behandelt, so scharf hervortreten, sind an Methylenblaupräparaten nur wenige, und auch diese nur undeutlich sichtbar.

Da die bisher berührten Gebilde (mit Ausnahme der letzteren, d. h.

der mit Fuchsin gut färbbaren Körnchen), also der axial gelegene „kernartige“ und die glänzenden Körper mit der Sporenbildung in keinem direkten Zusammenhange stehen, so kann ich auch auf ihre nähere Betrachtung eingehen, ohne die Entwicklung der Spore zu berühren.

Ein Vergleich junger Bacillen erst in ungefärbtem und dann mit Methylenblau gefärbtem Zustande überzeugte mich, daß das von Nakanishi als Kern bezeichnete Gebilde identisch ist mit dem von Schottelius im Milzbrandbacillus gesehene Kern; die stäbchen- oder hantelförmige Gestalt des stets axial gelegenen Gebildes ist auch an ungefärbten Zellen zu erkennen; allerdings ist es mir sehr wahrscheinlich, daß das von Schottelius beschriebene, „kernartige“ Gebilde bereits säurefeste Körperchen (siehe den folgenden Abschnitt) enthielt, durch die es leichter sichtbar wurde.

Vorläufig will ich mich eines Urteils enthalten, ob dieses Gebilde ein Kern ist oder nicht, und will erst nachforschen, was aus ihm wird.

2. Die säurefesten (Bungeschen) Körperchen.

Färbt man auf Säurefestigkeit (Deckglas, Trocknen, mit Karbol-fuchsin einmal Aufkochen, 5-proz. Schwefelsäure, Wasser), so erkennt man zuweilen bereits in Zellen 2—3-stündiger Keimlinge ein allerfeinstes rotes Körnchen oder ein hantelförmiges doppeltes Körnchen, von einem hellen Hofe umgeben; es liegt in der Achse der Zelle, ebenso wie das mit Methylenblau sich dunkelblau färbende „kernartige Gebilde“, nur ist es kleiner als dieses, wohl deshalb, weil es nur einen Teil des letzteren darstellt (siehe Fig. 128—133).

Prüft man ältere, aber noch nicht in Sporulation begriffene Kulturen auf diese säurefeste Substanz, so erscheint die Achse der Zellen oft mehr oder weniger rötlich schimmernd oder es liegt in der Achse ein feines rotes Stäbchen, das zuweilen an den Enden gequollen ist (Fig. 133, 135); daneben finden sich aber auch Zellen, deren säurefeste Körper hantel- oder kugelförmig sind; eine Zelle enthält 1—3 oder noch mehr Kügelchen, die entweder regellos zerstreut sind oder aneinandergereiht in der Achse liegen (Fig. 134, 136, 137). Manche Zellen aber besitzen überhaupt keine säurefesten Körper, sondern zeigen, nach dieser Methode behandelt, bloß einen zentralen, hellen Fleck.

In Betreff der Genese dieser säurefesten Körperchen sind gerade solche jüngere Zellen belehrend, wo diese Körperchen in ihren zartesten Formen erscheinen und wo der innere Bau der Zelle durch die Sporenbildung noch nicht kompliziert ist.

Vergleicht man die jüngsten dieser säurefesten Körperchen ihrer Form und stets axialen Lagerung nach mit der Gestalt und Lage des kernartigen Gebildes von Schottelius und Nakanishi, so kann wohl nicht bezweifelt werden, daß erstere in letzterem enthalten sind, und ich muß annehmen, daß erstere in letzteren gebildet werden. Daß die säurefesten Körperchen nicht einfach identisch sind mit Nakanishis durch wässriges Methylenblau färbbaren Kernen, folgt daraus, daß sie sich mit wässrigem Methylenblau nicht färben und in ihren jüngsten Stadien viel kleiner sind als jene „kernartigen“ Gebilde. Daß ferner die säurefesten Körper in jenem kernartigen Gebilde entstehen, dafür spricht die Tatsache, wonach in jungen Zellen die säurefeste Substanz stets streng in der Zellachse, somit im Zentrum der „kernartigen“ Gebilde auftaucht; in mit Methylenblau gefärbten Bacillen lassen sich die säurefesten Körperchen als ungefärbte glänzende Einschlüsse im

zentralen, dunkelblauen, „kernartigen“ Körper nicht selten erkennen, stets aber erst dann, nachdem sie bereits eine gewisse Größe erreicht haben.

Ich zweifle demnach nicht, daß die in jungen Zellen mit Methylenblau tief färbbaren „kernartigen Gebilde“ in der Achse der Zellen verdichtetes Plasma sind, worin die säurefesten Körper gebildet werden. Diese Annahme wird durch den weiteren Entwicklungsgang des Zellinneren wesentlich gestützt. Die anfangs feinen, axial gelegenen, säurefesten Stäbchen wachsen später, wie ich noch dartin werde, zu größeren Kügelchen aus, die sodann ihre zentrale Lage oft verlassen; gleichzeitig damit aber sind sie von keinem färbbaren Plasmahofe mehr umgeben, die Zellen haben überhaupt an Färbbarkeit Einbuße gelitten. Zwischen den glänzenden Kügelchen können sich noch dunkel gefärbte, unregelmäßig geformte Punkte und Flöckchen, als Reste jenes „kernartigen Gebildes“, finden, oft fehlen solche aber gänzlich. Einzelne junge Zellen desselben Fadens können aber auch jetzt noch ebenso dunkel gefärbt und mit ähnlichen dunkeln „Kernen“ erscheinen, wie Keimlinge der ersten Stunden (siehe Fig. 74, 75).

Das Erscheinen einiger glänzender Körnchen allein im Plasma genügt gewiß nicht, den Nachweis des „Kernes“, wie Nakanishi meint, zu erschweren oder letzteren unsichtbar zu machen, wenn er als echter Zellkern nach wie vor zugegen wäre.

Da das Erscheinen und Wachstum der säurefesten Körperchen, wie ich vorläufig bemerken will, mit der Sporenbildung parallel geht, so ist es leicht begreiflich, wenn Nakanishi sagt, daß „der Nachweis des Kernes bei einem asporogenen Bacillus viel leichter gelingt als beim sporogenen“. Nach meinen Beobachtungen aber wird der Nachweis des von Nakanishi für einen Kern angesehenen dichten Plasmazentrums durch den mit Entstehung der säurefesten Körper einhergehenden Zerfall und Schwund dieses Plasmazentrums selbst erschwert und zuletzt unmöglich gemacht, nicht aber durch die Sporenbildung, die meiner Erfahrung nach mit diesem Plasmazentrum nichts zu tun hat.

Die säurefeste Substanz, die in den Milzbrandbacillen zuerst von Bunge gefunden wurde und die als Bungesche Körnchen bekannt sind, haben also nach meinen Erfahrungen ihre Bildungsstätte im axial gelegenen Plasmazentrum des Milzbrandstäbchens.

Ueber das Verhalten der Bungeschen Körperchen, die ich als säurefeste bezeichne, habe ich noch folgendes zu berichten:

Anzahl, Gestalt und Größe der säurefesten Körper kann äußerst verschieden sein. Nicht selten trifft man junge (15—24-stündige) Kulturen, bei denen jeder Bacillus durchschnittlich bloß einen säurefesten Körper besitzt von der Gestalt eines Punktes oder eines kleinen Stäbchens, an einem oder an beiden Enden eventuell gequollen, oder eines Achters, einer Hantel. Die Größe der säurefesten Körper in so jungen und noch jüngeren Kulturen ist zumeist eine unbedeutende, etwa $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{10}$ des Bacillendurchmessers betragend; ausnahmsweise aber treffen sich bereits größere Kügelchen. Oft sucht man vergeblich nach Zellindividuen, die mehr als einen oder zwei säurefeste Körperchen enthalten; demgegenüber kommt es vor, daß unter gleichen Verhältnissen gezüchtete und gleichalte Kulturen anderer Stämme in je einem Bacillus 3—4 oder noch mehr säurefeste Körperchen enthalten, die ihrer Form nach den beschriebenen ähnlich sein können, die aber oft unsymmetrisch im Zellplasma zerstreut sind, d. h. sie liegen nicht alle im axialen Teile der Zelle, sondern zum Teil gegen die Peripherie gedrängt. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose¹).

Par

J. Lignières, et G. Spitz,

Directeur

Assistant

de l'Institut National de Bactériologie Buenos Aires.

Depuis bientôt trois ans, nous poursuivons systématiquement, surtout chez le bœuf, l'étude comparée des différentes affections que la clinique et même l'examen microscopique sommaire rangeaient parmi les affections à actinomycose.

Nous avons été surpris, dès le début, de constater des différences radicales dans la nature des parasites capables de produire des lésions actinomycosiques.

En dehors de l'actinomycose classique à *Streptothrix*, nous avons trouvé quatre autres formes distinctes d'actinomycose. L'étude de deux de ces dernières est terminée et l'une d'elles, l'actinobacillose, est même publiée depuis plus d'un an²); l'autre vient de paraître dans les Archives de Parasitologie³).

Notre mémoire sur l'actinobacillose contient des considérations générales sur l'actinomycose qui nous ont été inspirées par nos propres recherches et par l'étude comparée des actinomycoses ou pseudo-actinomycoses déjà connues.

Nos prochaines publications viendront encore à l'appui de nos premières conclusions; mais dès aujourd'hui, nous voulons donner un résumé d'ensemble de nos travaux.

Pour faire connaître la thèse que nous soutenons depuis notre publication sur l'actinobacillose, nous devons tout d'abord reproduire à peu près textuellement le chapitre V intitulé: Considérations et observations critiques sur la classification des actinomycoses.

Voici ce chapitre:

Après l'étude presque simultanée d'un parasite à massues rayonnées par Rivolta, Perroncito et Bollinger, le savant botaniste Harz qui le regarde comme un parasite de nature cryptogamique, lui donne le nom d'Actinomyces.

Pendant longtemps, l'unicité de l'actinomycose n'est point discutée et le seul élément dont on dispose pour établir avec certitude le diagnostic de cette maladie, c'est la présence, dans les lésions, de grains avec des massues plus ou moins radiées.

Cependant, après les études minutieuses d'Israël et de Boström, on ne tarde pas à attacher beaucoup d'importance à la partie microbienne centrale constituée par des filaments dichotomisés qui sont cultivés et

1) Communication faite au Congrès International de Médecine de Madrid, Avril 1903.

2) Actinobacillose. (Revista de la Sociedad Medica Argentina. N. 53. Enero, Febrero 1902.) Contribucion al estudio de las afeciones conocidas bajo el nombre de actinomycosis. (Boletin de agricultura y ganaderia el de Marzo de 1902.) L'actinobacillose. (Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire. 1902. p. 487.)

3) Actinophytose à *Streptothrix Spitzii* (septembre 1903).

classés dans le genre *Cladothrix* pour les uns et *Streptothrix* pour les autres.

Mais bientôt, des recherches nouvelles font connaître des affections ayant cliniquement et même histologiquement, les caractères de l'actinomycose classique avec des touffes de *Streptothrix* dépourvues de massues.

La confusion augmente encore avec la découverte de grains munis de massues typiques, mais sans filaments ramifiés.

C'est alors que l'on considère comme secondaire la présence des éléments renflés en massues tandis que l'existence de filaments dichotomisés devient du coup le point capital, la pierre de touche du diagnostic.

On range dans l'actinomycose vraie toutes les affections caractérisées par la présence de grains formés d'une partie centrale filamenteuse, à *Streptothrix* avec renflements périphériques. Pour les autres on crée des variétés d'actinomycose et le groupe des pseudo-actinomycoses.

Bientôt même, sous l'influence de Gasperini, Lachner, Hugo Marx, Lubarsch, E. Levy¹⁾ les *Streptothrix* ou plus généralement tous les microbes capables de pousser naturellement ou artificiellement en filaments dichotomisés, sont rapprochés et groupés sous le nom d'Actinomyces. Le mot Actinomyces devient alors synonyme de *Streptothrix* et la présence de filament ou de simples bacilles ramifiés constitue la condition nécessaire et suffisante pour diagnostiquer l'actinomycose.

C'est ainsi que des *Streptothrix* qui ne font jamais de massues sont classés parmi les Actinomyces, tandis qu'on refuse la désignation d'actinomycose à des maladies cliniquement identiques dont les agents spécifiques forment des renflements en massues typiques, mais pas de filaments dichotomisés.

Ces contradictions avec la conception primitive de l'actinomycose ne paraissent pas avoir arrêté les observateurs.

Par contre, dans ces dernières années, plusieurs auteurs, notamment Doyen²⁾, Coppen Jones³⁾, Berestnew⁴⁾, Silberschmidt⁵⁾ ont parfaitement reconnu l'impossibilité d'accepter l'unicité des actinomycoses, même à *Streptothrix*, défendue dans le grand travail de Boström⁶⁾.

Mais, le point sur lequel nous désirons particulièrement attirer l'attention, c'est que, partisans et adversaires de l'unicité de l'actinomycose semblent bien avoir généralement rapproché, apparenté même les parasites capables, soit de faire des massues, soit surtout de pousser en filaments dichotomisés.

Examinons donc maintenant quelle valeur on doit accorder au point de vue de la classification des actinomycoses, d'une part à l'existence de touffes de massues, d'autre part à l'existence de filaments dichotomisés.

1) Voyez votre bibliographie de l'actinobacillose.

2) Doyen, Congrès international d'hygiène de Londres. 1891.

3) Coppen Jones, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XVII. 1895.

4) Berestnew. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV.

5) Silberschmidt, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1901.

6) Nous pourrions citer un grand nombre d'auteurs qui ont isolé de lésions actinomycosiques des microorganismes différents du *Streptothrix* classique, mais il nous paraît inutile d'insister d'avantage.

1. Valeur des touffes à massues.

Les microbes qui produisent des massues dans l'organisme sont probablement fort nombreux; ceux que nous connaissons déjà sont principalement: le *Streptothrix actinomyces*, les bacilles du type tuberculeux¹⁾, le bacille de Wolff et Israël, le bacille de Cozzolino, l'actinobacille.

Certains *Streptothrix* et les bacilles du type tuberculeux ont, en dehors des massues, quelques caractères qui semblent les rapprocher: forme filamenteuse dichotomisée, aspect des cultures, certaine similitude des lésions.

Cependant, les bacilles du type tuberculeux ont des qualités tellement distinctes, tellement spéciales qu'on ne peut les confondre dans un même groupe avec les *Streptothrix* vrais, notamment le *Streptothrix actinomyces*. Les différences sont bien autrement irréductibles si nous comparons entre eux le bacille de Wolff et Israël, les bacilles du type tuberculeux, le bacille de Cozzolino et celui de l'actinobacilliose; nous voyons, en effet, que leurs propriétés morphologiques et biologiques, loin d'être comparables, montrent des différences extrêmes.

En réalité et comme beaucoup l'avaient déjà compris, aucune parenté, aucun rapprochement ne peuvent être établis scientifiquement entre plusieurs microbes, par le seul fait qu'ils possèdent la propriété de produire des éléments en forme de massues.

2. Valeur des filaments dichotomisés.

La propriété qu'ont beaucoup de microbes de pousser en filaments dichotomisés ne justifie pas mieux leur rapprochement.

Comme nous le disions plus haut, sous l'influence de plusieurs savants, tous les microbes capables de pousser naturellement ou artificiellement, de gré ou de force pourrait-on dire en filaments dichotomisés, ont été apparentés sous le terme impropre d'*Actinomyces*²⁾.

De ce nombre sont les *Streptothrix actinomyces*, les bacilles du type tuberculeux, le bacille de la diphtérie et jusqu'à celui de la morve.

Cette seule énumération doit suffire pour démontrer l'impossibilité d'un pareil rapprochement. En effet, apparenter sous le nom d'*Actinomyces* des microbes si radicalement différents que l'*Actinomyces bovis*, le bacille de Koch, celui de la diphtérie et celui de la morve, sous prétexte qu'ils peuvent, les uns habituellement, les autres dans des conditions exceptionnelles, pousser en filaments ramifiés, nous paraît tout simplement la négation de la bactériologie.

En constatant l'existence d'une dichotomie possible chez des microbes aussi absolument différents que ceux que nous indiquons un peu plus haut, on devait conclure que cette propriété à elle seule est parfaitement insuffisante pour faire un rapprochement quelconque des dits microbes. Or, contre toute logique, on a fait le contraire.

Plus s'est allongée la liste des microbes qui peuvent faire des

1) Bacilles de la tuberculose humaine, aviaire, pisciaire, bacilles modifiés par le passage dans l'organisme des grenouilles, de l'orvet; bacilles de la fièvre, du foin de Möller, bacille du beurre de Rabinowitsch etc.

2) Impropre au sens que Harz a donné au mot *Actinomyces*.

ramifications dans les cultures, et moins il a été possible d'y voir un caractère capable de les rapprocher.

La propriété de pousser en filaments dichotomisés si importante qu'elle soit pour certaines espèces microbiennes ne saurait donc jamais constituer, à elle seule, une base suffisante pour justifier la formation d'un groupe.

De ce qui précède, nous pouvons conclure que les propriétés de faire des touffes de massues et des filaments dichotomisés appartiennent au protoplasma de plusieurs espèces microbiennes radicalement différentes.

Il n'y a pas non plus de rapport constant entre ces deux propriétés. On n'a donc pas le droit d'apparenter des parasites sous ces seuls motifs, pas plus qu'on n'aurait celui, de le faire pour tous les microbes prenant le Gram ou tous les bacilles poussant en filaments.

Cela revient à démontrer l'inexistence de l'unicité de l'actinomycose, l'impossibilité absolue de faire des Actinomyces de tous les microbes pouvant faire des ramifications et la nécessité d'accorder toute autre signification au mot actinomycose.

Si la propriété de bourgeonner en massues ne saurait être un critérium véritablement scientifique d'une classification, elle n'en constitue pas moins un phénomène évolutif remarquable et un caractère réellement utile pour le diagnostic.

A ce double point de vue, cette propriété mérite d'être signalée et retenue par une désignation spéciale. Si dans ce but, on voulait conserver le mot Actinomyces¹⁾ il faudrait le rendre synonyme de grain de massues et rien de plus; quand on voudrait préciser la nature de l'actinomycose, il faudrait alors indiquer le nom du parasite qui lui a donné naissance et dire par exemple: actinomycose à bacille de Wolff et Israël etc. etc.

Mais nous pensons qu'en conservant l'ancien nom, on s'expose à retomber dans des confusions déjà trop consacrées par l'usage et qu'il est préférable d'employer une expression nouvelle, indiquant simplement la forme rayonnée et en masse des parasites, sans rien faire préjuger de leur nature.

Le mot actinophyte²⁾ (ἄκτις rayon, φυτόν plante) de signification très large, nous paraît acceptable, à la condition de ne lui accorder aucune idée de spécificité des parasites microbiens, mais seulement d'indiquer, comme nous venons de le dire, leur aspect sous forme de massues rayonnées.

Les affections dans lesquelles on trouve des actinophytes seraient désignées sous le nom d'actinophytoses. Les actinophytoses seraient qualifiées en les faisant accompagner du nom de leur parasite spécifique, toutes les fois que la détermination exacte en aurait été faite.

On dirait donc: actinophytose à Streptothrix actinomyces; actinophytose à bacille de Koch; actinophytose à bacille de Wolff et

1) Comme le professeur R. Blanchard le fait justement observer en de basant sur les lois de la priorité. (Arch. de Parasitologie. T. III. 1900. p. 193.) on devrait préférer à Actinomyces le nom de Discoomyces.

2) Ici nous donnons à φυτόν même sans qu'on lui attache dans saprophyte. Nous ne pensons pas être en désaccord avec les règles de la nomenclature en employant pour désigner des parasites microbiens le mot actinophyte employé en botanique pour désigner des plantes de la famille des composées.

Israël; actinophytose à bacille de Cozzolino, actinophytose à bacille de Lignières et Spitz etc.¹⁾

Cependant, comme nous sommes loin de connaître la nature de tous les grains à massues et qu'en clinique surtout il est souvent difficile de l'établir, il faudrait désigner sous le nom d'actinophytose de nature indéterminée ou simplement d'actinophytose les affections dans lesquelles on trouve des actinophytes c'est à dire des grains avec des massues, mais dont le parasite est indéterminé.

Il est des cas où des *Streptothrix*, font des lésions absolument comparables aux actinophytoses, mais dans lesquelles il n'y a pas de grains de massues²⁾. Ces affections pourraient être désignées sous le nom de streptothricoses³⁾.

Comme pour les actinophytoses, les streptothricoses doivent être spécifiées toutes les fois qu'il est possible de le faire, car les *Streptothrix* sont extrêmement variés, on dirait par exemple: Streptothricose à *Str. madurae*, streptothricose à *Str. farcinica* etc.

Il pourra se faire aussi que dans certaines conditions une actinophytose à *Streptothrix* ne fasse plus de grains de massues dans l'organisme et devienne une streptothricose.

Enfin, si des microbes n'appartenant pas aux *Streptothrix* faisaient cliniquement des lésions ressemblant aux actinophytoses, mais sans produire dans l'organisme de grains de massues rayonnées, on pourrait alors employer le nom de pseudo-actinophytose à microbe tel ou tel ou simplement de pseudo-actinophytose si le parasite n'était pas suffisamment déterminé.

* * *

Pour fixer les idées et appuyer en partie les conclusions précédentes, nous allons donner maintenant un résumé des caractères morphologiques, culturaux et pathogènes de trois actinophytoses distinctes que nous avons rencontrées chez le bœuf. Nous rappelons que nous en avons trouvé d'autres sur lesquelles nous espérons revenir dans différents mémoires.

1^{er} Groupe.

Actinomyces bovis (Harz) ou *Streptothrix actinomyces* (Rossi Doria) *Discomyces bovis* (Harz 1877) Rivolta 1878, Actinophytose à *Streptothrix actinomyces* (Rossi-Doria, Lignières et Spitz).

Ce *Streptothrix* semble bien être le premier qu'on ait rencontré et dont parlent Rivolta, Perroncito, Bollinger et Harz; c'est aussi celui qui a servi Boström dans ses travaux; jusqu'à ces derniers temps, il était regardé comme l'agent unique de l'actinomycose vraie.

On a beaucoup étudié ce parasite et cependant la détermination exacte de ses caractères morphologiques et biologiques était encore insuffisamment établie, le besoin ne s'en était d'ailleurs guère fait sentir grâce à l'opinion qu'on avait de l'unicité de l'actinomycose.

Le *Streptothrix actinomyces* est loin d'avoir absolument toujours les mêmes caractères. Comme pour tous les parasites, certains

1) Nous croyons qu'on pourrait parfaitement dire aussi; streptothricose à actinophytes, tuberculose à actinophytes etc.

2) Nous en avons trouvé récemment à Buenos-Aires un cas chez le bœuf.

3) Nous préférons discomycose. (*Discomyces* Rivolta 1878.)

de ces caractères sont variables, tandis que d'autres sont fixes ou spécifiques; il fallait déterminer ces derniers si on ne voulait pas s'exposer à décrire comme des espèces différentes de simples variations du même microorganisme.

Nous nous sommes donné cette tâche dans un mémoire qui paraîtra bientôt. Pour le moment, nous allons fixer surtout les caractères spécifiques du groupe en indiquant très succinctement les variations possibles.

Nos recherches ont été faites avec 15 échantillons distincts provenant de France (Institut Pasteur, Nocard, Lucet) de la République de l'Uruguay (Bergés) et de la République Argentine¹).

Dans les cultures, les *Streptothrix* de ce groupe se présentent toujours sous la forme de filaments longs, non articulés, enchevêtrés, nettement dichotomisés.

Les filaments ont une épaisseur variable dans la même préparation; cependant, ils sont ordinairement fins et droits ou légèrement ondulés; on en trouve aussi en forme de vrilles ou de spirilles; exceptionnellement ils se terminent par des renflements plus ou moins accentués, parfois en véritables massues, mais qui se colorent comme les filaments.

Tous prennent très bien le Gram; aucun n'est doué de mouvements de translation.

Souvent, lorsqu'on colore une culture, on trouve non seulement les filaments ramifiés que nous venons d'indiquer, mais aussi une quantité de petits microbes ovales réguliers prenant parfaitement le „Gram“.

Lorsqu'on colore au Gram du pus étalé en couche mince, ou des coupes fines, on trouve aussi les filaments dichotomisés et des granulations prenant bien le „Gram“.

Ces dernières granulations qui s'observent chez un grand nombre de *Streptothrix*, sinon dans tous, alors même qu'ils appartiennent à des groupes différents, ont fait l'objet de nombreuses discussions dont les plus importantes sont celles d'Israël et de Boström.

Pour les uns il s'agit de spores; pour d'autres, ce sont de simples dégénérescences granuleuses des filaments.

Jusqu'ici, il ne semble pas que les arguments donnés de part et d'autre aient été bien convaincants; aussi allons nous essayer de jeter un peu de jour sur cette question.

Tout d'abord, nos observations paraissent bien démontrer qu'on a généralement confondu à tort toutes les granulations.

Dans le pus ou les tissus, ainsi que dans les cultures de *Streptothrix* un peu âgées, il se produit une véritable dégénérescence granuleuse des filaments; ceux-ci sont pour ainsi dire coupés dans toute leur épaisseur et perpendiculairement à leur axe pour former des grains plus ou moins réguliers.

Ce phénomène n'a absolument aucun rapport avec une sporulation. Mais, il y a aussi un autre phénomène qui s'observe seulement chez certains *Streptothrix*, notamment chez tous ceux qui entrent dans le 1^{er} groupe que nous décrivons.

Au moment où se produit l'abondante efflorescence blanche que nous signalerons dans la plupart des cultures, si on prélève cette efflorescence et qu'on l'étale en couches minces, ce qui est facile puis-

1) A tous ceux qui ont bien voulu répondre à notre demande nous sommes heureuse d'adresser nos plus vifs remerciements.

que le produit est pulvérulent, on colore par le Gram quelques filaments en rose pâle; d'autres ont leur paroi colorée de la même façon, mais contiennent une quantité de petites masses protoplasmiques ovalaires régulières qui restent très fortement colorés en violet.

Enfin, on trouve parfois des amas énormes de ces formes ovalaires régulières qui ont retenu le Gram et qu'il faut regarder non pas comme des spores vraies, mais bien cependant comme des productions qui les rappellent.

A défaut de nom spécial plus approprié, nous les désignerons, au moins provisoirement sous le nom de pseudo-spores; elles sont tout à fait distinctes de la dégénérescence granuleuse des filaments. Ces pseudo-spores peuvent être rares dans les cultures ou même ne pas se former du tout; elles résistent plus que les filaments à la chaleur et aux anti-septiques; en germant elles reproduisent les filaments¹).

La distinction que nous faisons entre les granulations et les pseudo-spores des *Streptothrix* avait été entrevue nettement par Kruse dans l'article si remarquablement exact qu'il a écrit dans l'ouvrage de Flüggé (2^e Vol. p. 48).

Cultures.

D'une façon générale, on peut dire que les *Streptothrix* qui entrent dans ce groupe poussent facilement et abondamment dans tous les milieux de culture usuels.

Cependant, il n'est pas rare de les voir refuser tout à coup de pousser dans certains milieux, notamment la pomme de terre si on a trop laissé vieillir la culture. Dans ce cas, un ensemencement en bouillon ou sur gélose réussit mieux et permet de réensemencer dans tous les milieux.

Les cultures anaérobies réussissent bien mais sont ordinairement moins faciles qu'en présence de l'air; aussi nous occuperons surtout de ces dernières.

Bouillon simple et peptonisé. La culture se fait bien après 24 ou 48 heures; on voit se former au fond du tube de petits grains arrondis du volume d'une très petite tête d'épingle. Plus tard, ces grains grossissent, restent plus ou moins homogènes ou montrant un centre opaque, blanc grisâtre et une périphérie veloutée ou soyeuse formée de filaments en forme de brosses. Quand ce dernier aspect est très développé, les colonies rappellent beaucoup celles de certaines moisissures.

En même temps que les grains grossissent, ils se multiplient et arrivent ainsi à former de petits flocons irréguliers; d'autres s'attachent contre les parois du tube ou à la surface du liquide. A ce niveau, les grains peuvent former une collerette ou même une couche complète; presque toujours les colonies qui se trouvent à la surface du liquide se couvrent plus ou moins d'une efflorescence blanche comme la neige; très rarement l'aspect est lichénoïde ou l'efflorescence est grisâtre ou légèrement rosée. Jamais il ne se produit d'efflorescence sur les colonies qui sont complètement immergées dans le bouillon. A aucun moment de la culture le milieu n'est troublé uniformément.

Pendant des semaines, le bouillon conserve sa couleur normale et

1) Les granulations qui résultent de la dégénérescence des filaments peuvent aussi germer et donner des filaments.

sa réaction ; après deux ou trois mois, il devient brunâtre et prend une réaction alcaline. Dans tous les milieux liquides ces *Streptothrix* offrent à peu près toujours le même aspect ; les cultures sont seulement plus ou moins abondantes.

Bouillon peptone sérum. Culture identique à celle du bouillon peptone.

Bouillon peptone lactose. Il n'y a jamais de fermentation et après un ou deux mois le milieu est plus brun et la réaction alcaline.

Bouillon peptone glucose. La réaction est très généralement alcaline après un mois de culture.

Eau peptonisée à 10 %. Cultures identiques mais moins abondantes que pour le bouillon peptone.

Thé de foin. La culture est parfois assez maigre quoique toujours évidente, l'aspect des colonies est le même que précédemment. Dans les vieilles cultures la réaction du milieu ne change pas.

Lait. La culture y est toujours assez abondante ; après 2 ou 3 jours, coagulation en un caillot mou. Les jours suivants, le liquide qui se sépare du caillot et se trouve à sa surface augmente peu à peu par dissolution du caillot blanc. Ce liquide est légèrement troublé, sa réaction est alcaline, si la culture est vigoureuse, tout le coagulum est peptonisé et il arrive même que le liquide devient limpide, brunâtre, il est alors absolument impossible de reconnaître du lait tellement la transformation est radicale. La matière grasse du lait n'a pas été altérée, elle forme une ou deux petites gouttelettes huileuses à la surface du liquide ; dans le fond on voit le *Streptothrix* sous forme de colonies floconneuses ou d'une croûte efflorescente provenant de la culture à la surface. A ce moment la réaction du milieu est fortement alcaline.

Gélatine. D'abord voile presque transparent ou fines colonies qui commencent à liquéfier la gélatine après 2 ou 3 jours. Peu à peu toute la gélatine est liquéfiée ; la couche de culture où le voile s'épaissit, devient ordinairement efflorescente et tombe au fond du liquide dont la limpidité n'a pas été altérée. Après un mois, la teinte de la gélatine est devenue plus brune et la réaction plus alcaline.

Gélose. La culture sur gélose se fait très bien d'ordinaire. Si l'ensemencement est abondant, il se forme en 24 ou 48 heures une couche d'abord mince, plus ou moins transparente, mais déjà adhérente au substratum.

Les jours suivants, cette couche s'épaissit, devient feutrée, forme à la surface des colonies saillantes, par fois verruqueuses, d'un blanc opaque un peu luisantes comme celles du staphylocoque ; la culture s'enfonce d'ordinaire dans la gélose et ne la liquéfie jamais. Très souvent et quelquefois dès le deuxième jour, on voit apparaître à la surface de la culture une efflorescence d'un blanc de neige. Cette efflorescence peut être limitée seulement à quelques points, notamment en haut du tube ; ou bien elle envahit toute la surface de la culture.

Quand l'ensemencement a été maigre ou si quelques microbes seulement poussent isolément, on voit se former des colonies d'abord très petites, punctiformes, luisantes, transparentes, ressemblant à celles de la plupart des bactéries.

Dès le deuxième ou troisième jour, les colonies ont grossi, elles forment de petits tubercules qui plus tard deviennent plus ou moins verruqueux ; très souvent un tubercule principal donne naissance à d'autres petites colonies qui se développent simultanément à ses côtés.

Ces tubercules sont extrêmement adhérents à la gélose dans laquelle ils pénètrent; alors, la colonie peut-être formée d'une sorte de tubercule central surplombant la gélose, d'une couche circulaire plate étalée à la surface du milieu de culture et enfin d'un autre tubercule enfoncé dans le substratum. Les colonies sont toujours très difficiles à étaler sur lames de verre contrairement à la plupart des autres microbes. L'aspect et le volume de ces tubercules sont extrêmement variables. Il en est parfois qui s'accroissent en couches concentriques et forment alors à la longue des amas verruqueux entourés de ces zones concentriques. L'aspect de certaines cultures peut aussi rappeler celui que produisent les bacilles tuberculeux.

Que la culture couvre tout ou partie de la surface du milieu ou qu'elle forme des colonies isolées, la teinte est variable. Beaucoup laissent à la gélose sa teinte normale ou bien à la longue lui communiquent une couleur brun jaunâtre. Parfois, le milieu prend une teinte violacée puis fumée presque noire. Les colonies elles-mêmes peuvent être grises, jaunes, blanches ou loutres; elles sont parfois écailleuses et sèches.

Gélose de Würtz. La règle est que la culture ne fait pas virer la gélose mais, qu'au contraire, elle bleuit davantage.

Parfois, des cultures extrêmement vigoureuses rougissent et décolorent par place la gélose de Würtz comme s'il y avait une destruction du tournesol plutôt qu'une réaction acide; cependant, quelques jours après, la teinte bleue réapparaît plus intense qu'au début.

Sérum solidifié. Pousse bien en formant une couche feutrée, d'épaisseur variable, plus ou moins efflorescente avec ou sans colonies surplombant la surface du milieu; la culture est au début très adhérente comme sur tous les milieux solides.

Le sérum est toujours liquéfié après un temps plus ou moins long, en rapport avec la vigueur de la culture et le degré de coagulation du sérum.

Si celui-ci est un peu mou, en 3 semaines, la peptonisation peut s'opérer, tandis qu'il faut 1 et 2 mois et plus si la coagulation est très forte ou la culture assez débile. La partie liquéfiée, de même que celle qui reste solide, prennent une teinte plus foncée qu'au moment de l'ensemencement et la réaction devient fortement alcaline. Certains de ces *Streptothrix* communiquent au milieu une teinte violacée.

Pommes de terre. En général, c'est un milieu excellent; cependant, certains de ces *streptothrix* s'y accoutument difficilement au début. En répétant les ensemencements on parvient toujours à faire une culture abondante en employant de préférence un matériel jeune et vigoureux.

C'est surtout sur pommes de terre que les cultures de ces *Streptothrix* se manifestent sous des aspects multiples.

Il est à peu près impossible de donner une idée suffisamment complète de ces variations sans dessins appropriés; aussi nous les donnons en suffisante abondance dans notre travail spécial sur ce sujet.

En attendant, disons que les cultures se font tout d'abord assez lentement, 2 à 4 jours; puis bientôt par ensemencements successifs, le développement est des plus rapides (24 heures). Les cultures sur pomme de terre ordinaire n'ont presque jamais le même aspect que sur pomme de terre glycéricinée¹⁾.

1) Dans le vide elles ont souvent un aspect encore différent.

On note aussi des variations énormes dans l'aspect et l'abondance des cultures avec le même *Streptothrix* suivant que celles-ci ont été faites à quelques jours d'intervalle ou sur différentes pommes de terre, ou qu'elles ont été placées à des températures distinctes (entre 15 et 40°) ou bien que le produit d'ensemencement avait été pris sur des cultures diverses; ou enfin suivant l'âge même de la culture.

Si on note ces variations pour le même *Streptothrix*, à plus forte raison peut-on en noter chez ceux qui sont isolés de lésions différentes. Par contre, il arrive assez souvent, dans ce dernier cas, que les cultures se ressemblent beaucoup. Ainsi, nous avons fait des cultures avec plusieurs lésions d'actinophytose du bœuf prises dans le même troupeau. Or, si nous avons noté parfois des différences dans l'aspect et même la nature de certaines cultures; dans d'autres l'identité était complète.

Sur pomme de terre ordinaire ou glycéinée, le mycélium des *Streptothrix* dont nous nous occupons, s'étale dans les premières 24 heures, en une couche difficile à distinguer. Les jours suivants, il se produit des colonies tuberculiformes plus ou moins verruqueuses ou plissées. En pomme de terre glycéinée, la teinte peut être jaunâtre dès le début et conserver cette couleur plus tard en la fonçant un peu. Ou bien, c'est d'abord une teinte verte puis brune puis brun violacé et enfin noire. Parfois aussi, les tubercules ont à peu près la même teinte que la pomme de terre, mais celle là prend peu à peu une couleur plus brune. Le liquide glycéiné du fond du tube prend aussi une teinte spéciale, rose rougeâtre, jaune ou brune; à sa surface il y a souvent des colonies lichénoïdes, blanches, jaunes ou jaune verdâtre.

Sur pomme de terre ordinaire, les tubercules peuvent être de teinte rosée puis blanche puis jaune verdâtre.

Tout le monde connaît l'aspect classique si particulier du *Streptothrix actinomyces*, ou *Actinomyces bovis* qui est jaune soufre. Parfois, la culture prend l'aspect de celle de la tuberculose avec une teinte roussâtre particulière aussi à certaines cultures de bacilles de Koch.

Toutes ces colonies peuvent également présenter l'efflorescence blanche. Parfois, celle-ci couvre toutes les colonies ou bien seulement une partie; cette efflorescence peut aussi disparaître complètement par la suite.

Dans certaines cultures, toutes les colonies ne se développent pas en même temps et de la même façon; ainsi, nous en montrerons qui étaient formées de colonies verruqueuses, roussâtres en bas de la pomme de terre, blanches en haut, ou bien encore, roussâtres en bas, blanches au milieu, jaune verdâtre en haut.

Quelquefois aussi, des cultures tuberculiformes, d'abord d'un rose carmé, se couvrent en certains points d'efflorescences blanches qui passent au gris; ces efflorescences disparaissent par places laissant une teinte noirâtre des colonies qu'elles recouvraient. Celles-ci font alors un contraste curieux au milieu des colonies roses ou jaunâtres. Et cependant, la culture est parfaitement pure.

A la surface des cultures âgées, on remarque fréquemment des gouttelettes d'un liquide limpide comme la rosée; on peut faire la même observation en gélose.

Toutes les colonies s'enfoncent dans la substance même de la pomme de terre et y adhèrent très fortement.

A la longue — 5 et 6 mois — les cultures en pomme glycéinée,

surtout celles qui prennent une teinte noire, dissolvent la fécule qui disparaît peu à peu presque complètement.

Indol. Dans le bouillon pancréatique, nous n'avons jamais constaté de production d'indol.

Tous ces *Streptothrix* poussent même à 15° jusqu'à 40° et plus; ils se conservent parfois plus d'un an vivants dans les cultures.

Il est fort utile de constater que si ces *Streptothrix* ne donnent pas toujours une efflorescence blanche dans toutes les cultures, celle-ci se produit constamment mais en abondance variable dans la plupart des milieux et seulement sur les parties qui se trouvent au contact direct avec l'air.

Presque toujours aussi, les cultures de ces *Streptothrix* dégagent à un moment donné une odeur spéciale, vaseuse ou qui rappelle beaucoup celle des moisissures.

D'ailleurs, l'impression naturelle qui se dégage d'une étude prolongée de ces *Streptothrix* est un rapprochement évident avec les myxomycètes. Ils donnent l'impression de microorganismes qui auraient perdu quelques-uns de leurs caractères par suite d'une adaptation nouvelle à la vie parasitaire.

Malgré toutes leurs variations, nous avons vu cependant que ces *Streptothrix* possèdent des caractères morphologiques et biologiques spécifiques puisqu'ils sont communs et constants; en cela ils suivent la loi commune.

Par contre, nous devons faire remarquer que les distinctions de variétés qui seraient basées seulement sur l'aspect des cultures et surtout sur leurs couleurs diverses, ne seraient pas valables puisque nous avons montré que le même *Streptothrix* peut présenter toutes ces variations.

Cette constatation entache plusieurs essais de classification des *Streptothrix*.

Les *Streptothrix* de ce groupe sont extrêmement répandus dans la nature; nous les avons trouvés dans le sol, les eaux, les fumiers, les poussières et aussi dans des lésions qui n'avaient rien à faire avec l'actinophytose.

Que ces *Streptothrix* proviennent de lésions d'actinophytose ou qu'ils soient isolés du milieu extérieur, leur pouvoir pathogène est absolument nul pour tous les animaux.

Il y a là évidemment un contraste singulier entre la gravité des lésions d'actinophytose et l'inocuité absolue des inoculations expérimentales.

Ce contraste cache une ou plusieurs inconnues que nous chercherons à élucider.

2^{ème} Groupe.

Streptothrix Israëli.

Actinophytose à *Streptothrix* Spitzzi.

A ce groupe appartiennent le *Streptothrix* Israëli¹⁾, les *Streptothrix* étudiés par Doyen²⁾ et un nouveau que nous venons de

1) Wolff et J. Israël, Ueber Reinkulturen des Actinomyces und seine Uebertragbarkeit auf Tiere. (Virchows Archiv. 1890.)

2) Doyen, Congrès intern. d'Hygiène de Londres 1891 et Atlas du même auteur. Plusieurs autres savants ont aussi rapproché du *Streptothrix* Israëli des microbes qu'ils avaient isolés de lésions actinomycoïques.

rencontrer et d'étudier chez le bœuf. L'un de nous lui a donné le nom de son collaborateur: *Streptothrix Spitzzi*.

Lorsqu'on compare ces *Streptothrix*, on se demande même s'il n'y a pas identité absolue. Malheureusement, nous n'avons pas dans les descriptions cependant minutieuses des auteurs qui nous ont précédés, tous les éléments nécessaires à la solution de la question; d'autre part nous relevons aussi quelques caractères distinctifs, notamment en ce qui concerne la forme du microbe dans les cultures sur œufs et la qualité pathogène. Ainsi, le *Streptothrix* de Wolff et J. Israël donne sur œuf, surtout de longs filaments enchevêtrés, tandis que le *Streptothrix Spitzzi* pousse, dans les mêmes conditions, en billes courts.

Le microbe de Wolff et Israël se montre virulent pour le lapin et le cobaye chez lesquels il détermine presque constamment des foyers purulents où l'on rencontre des grains typiques avec massues rayonnées. Le mouton, au contraire, n'a fait aucune lésion. Avec le *Streptothrix Spitzzi*, on peut déterminer des lésions purulentes chez le cobaye et le lapin, mais on n'y rencontre pas de massues typiques. Le mouton est sensible même en injection sous-cutanée; il a fourni du pus dans lequel on trouvait des grains à massues typiques.

Quoique nous ayons mis en tête de ce groupe le *Streptothrix* Israëli pour rendre un juste hommage à l'un de savants qui ont le plus contribué à la connaissance des actinophytoses, l'étude du *Streptothrix Spitzzi* dont la description plus complète et plus en harmonie avec celles que nous avons données des autres actinophytoses, en est en réalité le véritable type.

Nos recherches réhabilitent définitivement, si on peut s'exprimer ainsi, le *Streptothrix* si admirablement étudié pour l'époque par Wolff et J. Israël et combattu avec une telle vigueur par Boström qu'il avait disparu de plusieurs classifications comme s'il se fut agi d'une erreur.

Il n'est pas douteux aujourd'hui qu'Israël et Boström ont discuté sur des sujets parfaitement distincts; et si on se demande comment a pu se produire cette confusion, il faut la chercher surtout dans la conviction que ces deux savants avaient de l'unicité de l'actinomycose.

Il est bien entendu que nous ne donnons ici qu'un résumé de notre travail de l'actinophytose à *Streptothrix Spitzzi* pour servir d'étude comparée avec les autres actinophytoses. On trouvera le détail de nos recherches dans notre mémoire spécial sur ce sujet¹⁾.

Examen du pus. Considérations générales sur les cultures. Qu'il s'agisse des lésions à *Streptothrix* du premier groupe (*Streptothrix actinomyces*) ou de celles à *Streptothrix Spitzzi*, l'examen microscopique est impuissant à constater une différence appréciable.

Dans les deux cas, on trouve de très jeunes grains constitués par des filaments dichotomisés et enchevêtrés prenant très bien le Gram; parfois les filaments sont renflés en forme de massues à leur extrémité, mais ce renflement conserve aussi très fortement le Gram. Dans les grains plus âgés, on rencontre une zone centrale constituée par les mêmes filaments en une zone périphérique plus ou moins régulière formée par des massues rayonnées dont la coloration retient seulement les matières colorantes acides et au centre desquelles le grain

1) Actinophytose à *Streptothrix Spitzzi*. (Archives de Parasitologie. 1903.)

colore souvent un filament. C'est le grain typique d'Israël et de Boström.

Dans les lésions, les filaments du *Streptothrix Spitzii* libres ou constituant un grain à massues, subissent fréquemment aussi la dégénérescence granuleuse, mais jamais on n'y constate la formation de pseudo-spores.

Les cultures n'offrent jamais d'efflorescences comme dans les *Streptothrix* du premier groupe; et si on observe la dégénérescence granuleuse dans les cultures plus ou moins âgées, on n'y voit pas plus que dans les lésions, de productions comparables aux pseudo-spores.

Le développement du *Streptothrix Spitzii* se fait indifféremment en présence de l'air ou dans le vide, mais il est toujours plus abondant dans les cultures anaérobies et ce dernier procédé est presque indispensable pour conserver le microbe dans les cultures en séries, particulièrement sur gélose.

Les cultures ne se font pas à 20—29° ou au-dessous, mais bien à la température de l'étuve à 37°. Les premières cultures sont assez délicates et sensibles aux variations de température.

Caractères morphologiques.

Ce microbe est très polymorphe.

Dans les cultures de deux à cinq jours sur gélose ou en bouillon peptone, il se présente sous la forme de bâtonnets plus ou moins longs; la plupart droits ou légèrement recourbés et ressemblant assez aux bacilles de la diphtérie, mais pas du tout aux *Streptothrix* du 1^{er} groupe.

Souvent, une de leurs extrémités est épaissie. D'autres sont un peu plus courts, leur forme est irrégulière, contournée en S ou recourbée en virgule brève. Enfin, on observe fréquemment dans les cultures en bouillon, dans le liquide de condensation des cultures en gélose et surtout dans les colonies cratériformes des vieilles cultures sur gélose, des formes longues, streptobacillaires ou même nettement filamenteuses. Ces dernières sont ordinairement flexueuses et pourvues de courtes ramifications qui se détachent presque à angle droit du filament principal.

Le *Streptothrix* est immobile, aussi bien dans les formes courtes que dans les formes longues; il prend bien les matières colorantes d'aniline et reste coloré par la méthode de Gram.

Cultures.

1° Aérobie.

Bouillon simple et peptonisé. Dans les premières 48 heures, on n'observe pas en général, de développement. Le troisième jour seulement; on constate l'existence d'un grand nombre de grains blancs, blanc-grisâtre, très fins, faiblement adhérents aux parois du tube et le dépôt granulo-floconneux du fond s'élève en tourbillons qui se dispersent dans le bouillon; celui-ci prend alors l'aspect d'un liquide renfermant en suspension un fin précipité albumineux. Par le repos, les amas microbiens ne tardent pas à se condenser de nouveau dans le fond du tube, tandis que le bouillon redevient limpide.

Pendant deux ou trois jours encore, la culture continue à s'accroître: le dépôt floconneux augmente un peu, mais sans changer de caractères; puis l'accroissement s'arrête et la culture conserve cet aspect sans aucune

autre modification pendant plusieurs mois. Jamais on n'observe la formation de voile ni d'anneau.

Contrairement à ce qu'on pourrait supposer, les microbes qui constituent les amas granuleux ou floconneux n'ont pas une forme filamenteuse; il sont au contraire, courts, diphtériformes, mais ils ont une tendance marquée à conserver dans les préparations leur disposition en amas épineux.

Les cultures aérobies en bouillon n'ont qu'une faible odeur, leur réaction est nettement acide.

Les cultures en série se font assez bien dans le bouillon peptone et toujours avec les mêmes caractères, le milieu n'est jamais uniformément troublé, même après un grand nombre de passages.

Bouillon peptone sérum. L'addition au bouillon d'une petite quantité de sérum de cheval ou de bœuf, favorise notablement la culture; les amas microbiens y sont plus nombreux et prennent un aspect plus floconneux; le dépôt qu'ils forment dans le fond du tube est, par suite, plus abondant, mais la culture se comporte pour le reste de la même façon que les cultures en bouillon peptone ordinaire.

Bouillon peptone lactose. Culture identique aux précédentes; la réaction du milieu devient franchement acide.

Bouillon peptone glucose. Réaction également acide après quelques jours.

Eau peptonisée à 10 %. Culture moins abondante qu'avec le bouillon peptone ordinaire.

Thé de foin. La culture s'y fait assez bien et dans les mêmes conditions qu'en bouillon peptone, sous forme de grains et surtout de flocons qui se déposent au fond du tube et sur les parois.

Lait. Le laitensemencé largement avec une culture en bouillon coagule très lentement. La coagulation commence dans le fond du tube vers le 5^e ou le 6^{me} jour, quelquefois plus tard; elle n'est complète qu'après une semaine environ. Il se forme un caillot blanc qui n'a pas de tendance à se dissoudre; le liquide qui le surmonte est plus ou moins louche et de réaction nettement acide.

Gélatine. Les ensemencements sur gélatine ne donnent pas de culture à la température ordinaire de la chambre 18 à 20°, ou à l'étuve à gélatine réglée à la température de 20 à 22°.

A la température de l'étuve à 37° la culture se fait comme en bouillon peptone, mais elle est plus abondante. Dans les deux premiers jours, on n'observe aucun développement; le troisième jour seulement, on constate l'existence d'un dépôt floconneux.

Dans le fond du tube ce dépôt augmente encore pendant deux ou trois jours, puis reste stationnaire.

Si alors on place la culture à une température inférieure à 20—22°, la gélatine se solidifie à nouveau; c'est la preuve que le microbe ne la liquéfie pas.

Gélose. Sur gélose aérobie, la culture est lente; on n'observe aucun développement dans les 24 premières heures qui suivent l'ensemencement. Au bout de 48 heures seulement, on commence à distinguer un grand nombre de colonies très fines, à peine perceptibles, transparentes et brillantes, comme des colonies de streptocoques. L'examen microscopique les montre constituées par des bacilles prenant le Gram, ressemblant beaucoup aux bacilles diphtériques et souvent

disposés par deux comme ces derniers, en forme de V dont la pointe ne serait pas fermée.

Le troisième jour, les colonies sont un peu plus grosses; elles atteignent le volume d'une petite tête d'épingle et ont déjà perdu un peu de leur transparence. Les jours suivants, elles continuent à s'accroître et deviennent saillantes à la surface de la gélose; en même temps, il s'est formé dans le liquide de condensation, de nombreux petits grains blancs qui se déposent au fond du tube. Vers le 4^e, 5^e ou 6^e jour, la culture a pris un aspect assez caractéristique; à cette époque on y rencontre deux sortes de colonies, les plus grosses blanches, opaques, ont une forme circulaire, le centre présente une petite saillie hémisphérique entourée d'une zone plate; les plus petites au contraire sont plus irrégulières, elles ont les bords saillants, un peu crénelés et le centre déprimé ce qui leur donne un aspect spécial annulaire ou cratériforme. Peu à peu, l'aspect de ces colonies se modifie; dans les cultures âgées d'une dizaine de jours, elles prennent la forme de petites pyramides blanchâtres, sèches, à base triangulaire ou quadrangulaire, à sommet mousse et à surface plissée d'une façon irrégulière. Quelquefois aussi, mais non toujours, les colonies semblent entrer dans la gélose et y pousser quelques prolongements fins et irréguliers. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. **F. B. Simon**, Zürich.

Die ersten Versuche, aus Streptokokkenkulturen giftige Stoffe zu gewinnen und dadurch zu einem Verständnis dieser Infektionskrankheiten zu gelangen, wurden bereits vor anderthalb Jahrzehnten angestellt.

Im Jahre 1888 berichteten Manfredi und Traversa (1) über toxische Substanzen in den Filtraten von Erysipelkulturen. 4 Jahre später „gelang es Roger (2), mit filtrierten Erysipelkulturen Kaninchen zu töten, wenn er ihnen pro Kilo 13–20 ccm in die Blutbahn spritzte“. Im Jahre 1895 erschien die erste diesbezügliche Arbeit von Marmorek (3), in welcher er angibt, daß er aus 3 Monate alten Kulturen seines stark virulenten Streptococcus, die in 2 Teilen menschlichen Serums und 1 Teil Bouillon gewachsen waren, ein Filtrat erhielt, von dem 1 ccm ein Kaninchen von 2 kg in 3–4 Tagen tötete. Ungefähr gleichzeitig veröffentlichte Marmier (4) seine Untersuchungen über das Milzbrandtoxin, wobei er mitteilte, daß er auf dem gleichen Wege auch ein sehr wirksames Streptokokkentoxin gewonnen habe. Die Kulturen wurden angelegt in einer Flüssigkeit, die auf 1000 g Wasser 40 g Pepton, 15 g Meersalz, 0,5 g Natriumphosphat, 0,2 g Kaliumphosphat und 40 g Glycerin enthielt. Dieselbe wurde mit dem Herzblut eines Streptokokkentieres geimpft und 2 Tage bei 36° und 14 Tage bei 20° gehalten. Das Filtrat wurde mit Ammoniumsulfat ausgefällt, der Niederschlag mit Glycerin ausgezogen, dann mit Alkohol gefällt und im Vakuum getrocknet. Auf diese Weise erhielt Marmier eine pulverförmige Substanz, welche in Dosen von 40 mg toxisch auf Kaninchen wirkte; ob die Tiere stets sicher getötet wurden, geht aus den Angaben nicht klar hervor.

1897 gewann Schenk (5) aus Bouillonkulturen des *Streptococcus Marmorek* und eines anderen Stammes geringerer Virulenz Filtrate, die in Dosen von 1–2 ccm Mäuse töteten, bei Kaninchen aber versagten.

Auch v. Lingelsheim (6) untersuchte die Streptokokkenfiltrate auf ihren Toxingehalt. Besonders giftig wirkende Filtrate erhielt er von einem stark abgeschwächten Stamm, der zunächst in großen Massen (Bodensatz von 150 ccm Kultur) einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert wurde. Nachdem der *Streptococcus* noch 2 andere Meerschweinchen passiert hatte, wurden von ihm Kulturen in 1 Teil Pferdeserum und 9 Teilen Bouillon angelegt und nach 14 Tagen filtriert. Bei intraperitonealer Injektion wurden Kaninchen durch 2,5–10 ccm dieser Filtrate getötet. Als durch weitere Tierpassage der Stamm stark virulent wurde, erlosch die Toxinbildung in den Kulturen vollständig.

Durch Erhitzen auf 100°, Filtration, Einengung im Vakuum und Fällung mit Alkohol konnte v. Lingelsheim das Gift konzentrieren, so daß bei intraperitonealer Einspritzung 0,1–0,2 g, bei subkutaner 0,5 g genügten, um Kaninchen von 900–1200 g zu töten.

Ueber die Wirkung dieser Gifte auf die Tiere äußert sich v. Lingelsheim folgendermaßen: „Die Krankheitserscheinungen bestehen bei subkutaner Einverleibung der Gifte in einer mehr oder minder starken Schwellung in der Umgebung der Injektionsstelle, Fieber und meist profusum Durchfall. War die Dosis nicht stark genug, um die Tiere akut in 24–36 Stunden zu töten, so trat starke Abmagerung ein und häufig eine durch Tage anhaltende Herabsetzung der Körpertemperatur um 1,5° ja 2° C. Hält dieser Zustand länger an, so treten häufig Sekundärinfektionen hinzu, die den Tod beschleunigen. Bei intraperitonealer Einverleibung beträgt die tödliche Dosis nur ca. $\frac{1}{5}$ der bei der subkutanen Injektion erforderlichen Menge. Hier setzen die Krankheitserscheinungen viel schneller ein. Schon nach 3–4 Stunden erscheint der Leib aufgetrieben, das Tier wird sehr schwach und verendet häufig schon nach 3–4 Stunden unter Krämpfen. Der Obduktionsbefund bei den vergifteten Tieren weist außer entzündlichen Erscheinungen an der Eingangspforte des Giftes wenig Bemerkenswertes auf.“

Besredka (7) gewann aus Streptokokkenkulturen ein hämolytisch wirksames Filtrat. Kaninchenserum wurde auf 55° erhitzt, um die Alexine unschädlich zu machen, und dann mit dem Herzblut eines Streptokokkentieres geimpft. Die Kultur wurde schon nach 16–18 Stunden filtriert, da ältere Kulturen einen geringeren Hämolysegehalt haben und 5-tägige bereits ganz unwirksam sind. 2-stündiges Erhitzen auf 70° zerstört das Hämolsin. Dasselbe wirkt nicht toxisch auf Tiere, indem Kaninchen die Injektion von 20–30 ccm gut ertragen; auch konnte kein Antihämolsin damit erzielt werden.

Im Jahre 1902 veröffentlichte Marmorek (8) eine zweite Arbeit über das Streptokokkentoxin. Zur Herstellung desselben gibt er ein ziemlich kompliziertes Verfahren an. Er injiziert einem Meerschweinchen, das durch 2–3 starke Dosen Antistreptokokkenserum vorher immunisiert wurde, 10 ccm Bouillon in die Bauchhöhle. Tags darauf wird das Tier getötet und die Bauchhöhle mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Die so erhaltene Leukocytenaufschwemmung wird mit dem Serum eines anderen Meerschweinchens vermischt im Verhältnis von 1 zu 3. In diese Mischung wird der *Streptococcus* ausgesät. von da wird er in eine frisch bereitete Kulturflüssigkeit von gleicher Zusammensetzung überimpft und erst von hier aus in den eigentlichen

Nährboden übertragen, der zur Toxingewinnung dient. Dieser Nährboden besteht aus 250 g Peptonbouillon, welchem je 10 g Leucinbouillon (0,4 g Leucin auf 150 g Bouillon) und 10 g Glykokollbouillon (0,5 g Glykokoll auf 100 g Bouillon) zugefügt sind. Das Filtrat einer 8 Tage alten Kultur dieser Art tötete Kaninchen in Dosen von 0,25–0,5 ccm. Ueber die Krankheitserscheinungen und den Sektionsbefund der mit diesem Toxin getöteten Tiere macht Marmorek leider keine Angaben.

Im Gegensatz zu diesen Autoren, welche sämtlich ziemlich giftige bezw. hämolytische Substanzen aus Streptokokkenfiltraten erhielten, äußert sich Aronson (9): „Selbst die virulentesten und am reichlichsten gewachsenen Kulturen zeigen nur die Bildung ganz geringer Mengen gelösten Toxins. Die Kulturen wurden nach 2-tägigem bis 4-wöchentlichem Wachstum sorgsam durch Chamberland- oder Pukal-Filter filtriert und bei Kaninchen geprüft. 10–20 ccm wirkten stets krankmachend; es traten lokale Infiltrate, Fieber und Gewichtsverminderung, in einzelnen Fällen auch der Tod ein.“ Aronson bediente sich einer Pferdebouillon mit Zusatz von 0,1 Proz. Zucker als Nährboden. Auf Grund seiner negativen Resultate vermutet Aronson, daß manche Angaben über Streptokokkentoxin auf mangelhafte Sterilität des Filtrates zu beziehen seien, daß es sich dort also nicht um eine Toxinwirkung, sondern um eine gewöhnliche Infektion mit lebenden Kokken gehandelt habe. Er fordert daher in allen diesen Fällen die sorgfältige kulturelle Prüfung des Herzblutes.

Neben den soeben besprochenen Arbeiten, welche darauf abzielten, in den Filtraten von Streptokokkenkulturen ein gelöstes Toxin nachzuweisen, wurden ungefähr gleichzeitig Untersuchungen dahin angestellt, ob etwa die Kokkenleiber eine ungelöste toxische Substanz enthalten.

So berichtete B o n o m e (10), daß er in den Leibern der Streptokokken Gifte gefunden habe, die namentlich auf Kaninchen wirkten. Diese Gifte lösen sich in Wasser und in schwachen Natriumkarbonatlösungen und können aus Streptokokkenkulturen durch Zusatz verdünnter Kalilauge und successiver Behandlung mit Essigsäure extrahiert werden. Die toxischen Eigenschaften variieren je nach dem Streptokokkenstamm, von dem sie gewonnen werden. Man kann daher mit diesem Kokkengift ein Tier nur gegen denjenigen Streptokokkenstamm immunisieren, von dem dasselbe herrührt.

v. Lingelsheim (6) beschäftigte sich ebenfalls mit der Frage, ob das Streptokokkengift etwa an den Körper des Mikroben gebunden sei. Es wurden 3-tägige virulente Bouillonkulturen abzentrifugiert und durch 2–3-stündige Erwärmung auf 65° C abgetötet. Bei intraperitonealer Injektion war das Resultat negativ; es konnten einem Kaninchen von 1000 g die Kokkenleiber von 500 ccm Bouillonkultur eingespritzt werden, ohne das Tier „in seinem Wohlbefinden sichtlich zu beeinträchtigen“. Stärker wirkte die intracerebrale Injektion; hier genügte die Kokkenmenge von 10 ccm Kultur, um das Tier zu töten.

Nachdem es Aronson (9) nicht gelungen war, aus den Filtraten von Streptokokkenkulturen wirksame Gifte zu erhalten, untersuchte er die Kokkenleiber auf ihren Gehalt an toxischen Stoffen. Er bestreitet die Angabe Marmoreks, daß durch einstündiges Erhitzen auf 55–60° Streptokokkenkulturen abgetötet würden, und behauptet, daß erst bei 70° eine sichere Sterilisation zu erzielen sei. 2–3 ccm eines auf 70° erhitzten Sedimentes 14-tägiger Bouillonkulturen bewirkten bei sub-

kutaner Einspritzung jedoch nur eine vorübergehende Erkrankung des geimpften Kaninchens (Infiltrat, Abmagerung), während dagegen die Injektion von 2—3 ccm desselben Sediments, wenn es durch oftmaliges Schütteln mit Chloroform sterilisiert wurde, in 1—3 Tagen zum Tode des Tieres führte. Die Prüfung des Herzblutes ergab, daß keine Infektion stattgefunden hatte. Wurde jedoch das Sediment im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, so bedurfte es zur Tötung des Tieres relativ weit größerer Mengen, nämlich 0,05—0,1 g Trockensubstanz. Aronson erklärt dies aus einer Abschwächung des Giftes infolge der Verdunstung des Chloroforms und der Eintrocknung.

Im Jahre 1899 erschien eine Serie von Arbeiten über Streptokokkentoxine aus dem pathologischen Institut Helsingfors (Homén, Laitinen u. a.) (11), die ich erst an dieser Stelle erwähne, weil aus den Angaben der Autoren nicht klar zu ersehen ist, welcher der beiden oben angeführten Gruppen diese Untersuchungen zugehören, indem die Verfasser ihr Streptokokkengift sowohl aus Vollkulturen wie aus Filtraten gewannen. Es wurden Streptokokkenkulturen oder Filtrate derselben mit Ammoniumsulfat oder Amylalkohol ausgefällt. Wurde Ammoniumsulfat verwendet, so wurde der Niederschlag zunächst dialysiert, weiterhin aber beide Male gleich verfahren, indem die Fällung getrocknet, in 0,5-proz. Kochsalzlösung gelöst, durch Papier filtriert und das Filtrat bei 65—70° sterilisiert wurde. 5 ccm dieser Lösung, subkutan injiziert, töteten Kaninchen nach 24 Stunden.

Schenk (5), welcher die Methode Homéns und Laitinens bei seinen toxinbildenden Streptokokken nachprüfte, hatte dabei ein negatives Resultat.

Meine eigenen Untersuchungen begannen mit der Prüfung von Streptokokkenfiltraten auf ihren Toxingehalt. Es wurden verschiedenartige Bouillonkulturen angelegt: Kulturen in doppelter Bouillon, in Ascitesbouillon wechselnder Zusammensetzung, in Bouillon mit Zufügung eines gleichen Volumen Fleischsaft, die dann entsprechend alkalisiert wurde, in Zuckerbouillon, welcher zur Neutralisierung der beim Wachstum der Streptokokken auftretenden Milchsäure kohlensaurer Kalk zugesetzt wurde. Ein Teil der Filtrate wurde im Vakuum bei 38—40° auf ein Fünftel des Volumens eingeengt. Das Resultat war in allen Fällen negativ, obwohl zu den Kulturen ein virulenter Streptococcus (Stamm B) verwendet wurde, und obwohl hohe Dosen injiziert wurden — z. B. 30 ccm eingeengten Filtrats entsprechend 150 ccm Kultur einem Kaninchen von 880 g — war doch in keinem Fall eine stärkere toxische Wirkung zu beobachten. Auch bei Anwendung der Marmorekschen Leucin-Glykokoll-Bouillon war kein anderes Ergebnis zu erzielen.

Nachdem ich in diesen Streptokokkenfiltraten kein Toxin gefunden hatte, ging ich an die Untersuchung der Frage, ob das Streptokokkengift etwa an den Körper des Mikroben gebunden sei.

I. Das im Kokkenleib enthaltene Streptokokkengift.

Zu diesen Versuchen benutzte ich die Sedimente größerer Bouillon- oder Zuckerbouillonkulturen, welche meist durch Erhitzen abgetötet wurden. Was die Streitfrage über die untere Sterilisationstemperatur der Streptokokken anbetrifft, so dürfte es schwierig sein, eine für alle Fälle passende Norm aufzustellen. Schon v. Lingelsheim wies mit Recht darauf hin, daß gewöhnliche Bouillonkulturen in Reagenzgläsern

zur Abtötung einer niedrigeren Temperatur bedürfen als die kokkenreichen Sedimente größerer Kulturen. Auch ich habe dieselbe Beobachtung gemacht. Immerhin dürfte so viel feststehen, daß die von Marmorek angegebene Erwärmung auf 55—60° für die Sterilisierung der meisten Streptokokkenkulturen unzureichend ist, während dagegen die Temperatur von 70°, welche Aronson anwendete, entschieden zu hoch gegriffen ist. Von Ausnahmefällen abgesehen, dürfte in der Regel ein ein- oder mehrstündiges Erhitzen auf 65°, wie es v. Lingelsheim empfiehlt, zur Abtötung der Kulturen und Sedimente vollkommen genügen.

Welche Temperatur man aber auch einwirken läßt, so ist es doch stets unbedingt geboten, die erhitzte Kultur durch eine exakte Methode auf ihre Sterilität zu prüfen, bevor man dieselbe zum Tierversuch benützt. Wenn Aronson vermutet, daß manche Angaben über Toxine in Streptokokkenfiltraten auf mangelhafte Sterilität derselben zurückzuführen seien, daß es sich dabei also nicht um Intoxikation, sondern um Infektion gehandelt habe, so hege ich diesen Verdacht in noch viel stärkerem Maße gegenüber manchen Versuchen mit abgetöteten Kokken. Denn das bisher übliche Verfahren, die durch Erhitzen oder andere Mittel vorbehandelten Kulturen auf Sterilität zu prüfen, indem man mittels Pipetten einen mehr oder minder großen Teil solcher Kultur auf Bouillonröhrchen übertrug, die man nachher in den Brutschrank brachte, war nicht nur nicht exakt, sondern durchaus unzulänglich. Ich habe früher, als ich mich noch dieser Methode bediente, wiederholt im Herzblut der Tiere, die mit einer so vorgeprüften, angeblich sterilen Kultur geimpft waren, massenhaft lebende Streptokokken gefunden. Schenk und offenbar auch v. Lingelsheim haben ähnliche Erfahrungen gemacht.

Selbst die Sterilität des Herzblutes des mit „abgetöteten“ Kulturen geimpften Tieres bei der Autopsie ist keineswegs durchaus beweisend, wie ich gegenüber v. Lingelsheim und Aronson betonen muß, welche diesen Befund als entscheidendes Kriterium in Bezug auf die vollständige Abtötung der injizierten Kultur betrachten. Wir wissen seit langem, daß nach der Einspritzung lebender, namentlich schwach virulenter Streptokokkenkulturen die Tiere nichtsdestoweniger mit sterilem Blut und sterilen Organen sterben können. Injiziert man aber das gleiche Quantum derselben Kultur, nachdem dieselbe vorher sicher sterilisiert wurde, so bleibt das Tier am Leben. Würde man nur mit einer Mischung einer gleichen Dosis lebender und sterilisierter Kultur des gleichen Streptococcus ein Kaninchen impfen, so würde das Tier natürlich ebenfalls sterben, aber niemandem würde einfallen, den Tod desselben auf die injizierten abgetöteten Kokken zu beziehen, wenn auch alle Organe desselben bei der Sektion steril sind.

Einen ähnlichen Tatbestand kann aber unter Umständen die Injektion mangelhaft sterilisierter Kulturen oder Sedimente bieten, und es besteht die Möglichkeit, daß in solchen Fällen das geimpfte Tier tatsächlich nicht infolge der Injektion der abgetöteten, sondern der durch die Vorbehandlung nur abgeschwächten Kokken stirbt, während die bei der Sektion angelegten Kulturen steril bleiben.

Der Sektionsbefund beweist also keineswegs, daß die injizierte Kultur wirklich steril war. Es darf daher der Tierkörper, dem große Mengen lebender Kulturen eingespritzt werden können, ohne daß nachher in den Organen desselben noch eine Spur der injizierten Mikroben

zu finden ist, nicht als Reagens in Bezug auf die Sterilität einer Kultur verwendet werden. Denn die bakteriziden Kräfte des tierischen Organismus bilden einen besonderen Sterilisationsapparat für sich, der unter Umständen große Mengen schwach virulenter oder abgeschwächter Kokken vollständig abzutöten vermag.

Will man daher die Einwirkung abgetöteter Kokken auf den Tierkörper untersuchen, so muß man schon vor dem Tierversuch sicher sein, daß kein lebensfähiger Keim mehr in den betreffenden Kulturen vorhanden ist. Das Verfahren, dessen ich mich zu diesem Zwecke bediente, ist so einfach wie möglich. Ich impfte nicht aus der erhitzten Kultur in Bouillonröhrchen ab, sondern fügte vielmehr dem erhitzten Sediment das gleiche Volumen frischer Bouillon zu und stellte dasselbe nachher auf 24 Stunden in den Brutschrank. Dann wurde aus dem Sedimentröhrchen auf Bouillonröhrchen übergeimpft, und wenn diese abermals 24 Stunden im Brutschrank gewesen und dann steril geblieben waren, so war damit der exakte Beweis dafür erbracht, daß das erhitzte Sediment vollkommen steril war, da einem jeden etwa noch lebenden Coccus in dem erhitzten Sediment die Möglichkeit geboten worden war, von neuem zu wachsen.

Man kann das Verfahren abkürzen, wenn man zu dem erhitzten Sediment — vorausgesetzt, daß dieses nicht schon aus einer Zuckerbouillonkultur stammt — statt gewöhnlicher Bouillon 1-proz. Zuckerbouillon hinzufügt und dann dasselbe in den Brutschrank stellt. 24 Stunden später prüft man die Reaktion; ist diese alkalisch geblieben, so war das Sediment steril und kann sofort zum Tierversuch benutzt werden. Ich habe jedoch gewöhnlich nur die erste der beiden Methoden angewendet.

Selbstverständlich wurden nach dem Tode des Tieres aus dem Herzblut und den Organen Kulturen angelegt. Ich habe aber niemals lebende Kokken im Tierkörper gefunden, wenn das erhitzte injizierte Sediment zuvor nach dem angegebenen Kontrollverfahren geprüft und als steril befunden war.

Anfangs wurden die Sedimente 1 Stunde lang auf 65° erhitzt, bei späteren Versuchen nur auf 63—64°. In der großen Mehrzahl der Fälle waren dann keine lebenden Keime mehr nachzuweisen; einige Male jedoch mußte das Sediment nochmals 1 Stunde auf 63—64° erhitzt werden, wodurch dann stets vollkommene Sterilität erzielt wurde.

Da die Erwärmung möglicherweise eine Abschwächung des an den Kokkenleibern haftenden Giftes zur Folge hatte, wollte ich auch einige Versuche mit Sedimenten anstellen, die auf anderem Wege, durch chemische Mittel, abgetötet waren. Das bisher übliche Verfahren der Sterilisierung durch Chloroform erwies sich in verschiedener Beziehung als durchaus ungeeignet, da es längere Zeit in Anspruch nahm und dabei schließlich nicht sicher in der Wirkung war. So behandelte ich einmal ein Streptokokkensediment während 6 Wochen mit Chloroform, trotz häufigen Umschüttelns war selbst nach dieser langen Zeit die Kultur noch nicht steril. Ein anderer Nachteil dieses Verfahrens bestand darin, daß auch nach dem Abgießen des Kockensedimentes von dem darunter befindlichen Chloroform es schwierig ist, das an die Kulturflüssigkeit gebundene Chloroform auszutreiben, ohne dieselbe mit Luftbakterien zu infizieren. Denn, falls das Chloroform nicht vollständig entfernt ist, so wird das mit einem solchen Sediment injizierte Tier

gleichzeitig der Einwirkung zweier Gifte ausgesetzt, einmal dem Chloroform und dann dem Kokkengift.

Ich versuchte mehrere Male das Chloroform durch andauerndes Durchleiten von Wasserstoffgas auszutreiben; dies gelang auch schließlich, aber trotz aller Vorsichtsmaßregeln wurde die Kultur stets mit Luftbakterien infiziert, so daß eine Prüfung auf Sterilität im Brutschrank ausgeschlossen war.

Auf den Rat von Herrn Dr. Silberschmidt, dem ich hierfür wie für die vielen wertvollen Dienste, welche er mir während meiner Arbeit erwies, zu großem Dank verpflichtet bin, wendete ich dann statt des Chloroforms das Formalin an. Unterhalb des Wattedropfens, der das Kulturröhrchen verschließt, wurde ein zweiter Pfropf mit hydrophiler Watte angebracht, der mit 40-proz. Formalinlösung befeuchtet war. Nachdem eine Kautschukkappe darüber gestülpt und dann das Röhrchen 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten worden war, wurde der Formalinpfropf herausgenommen und an seiner Stelle ein mit Ammoniak befeuchteter Wattebausch eingeführt, um das Formalin zu binden. 24 Stunden später wurde auch der Ammoniakpfropf entfernt, und dann das Sedimentröhrchen noch 6 Tage lang ohne Kautschukkappe bei Zimmertemperatur belassen, um das überschüssige Ammoniak zu verdunsten. Injiziert man ein Quantum steriler Bouillon, welche auf diese Weise mit Formalin und Ammoniak behandelt wurde — ich spritzte 7 ccm solcher Bouillon einem kleinen Kaninchen in die Ohrvene — so bleibt das Tier vollkommen gesund. Die Sedimente wurden durch das Formalin prompt und sicher abgetötet, eine Verunreinigung mit Luftkeimen wurde nie beobachtet, im Gegenteil bot dieses Verfahren noch den Vorteil, die innere Wandung des Sedimentröhrchens über dem Flüssigkeitsniveau ebenfalls zu sterilisieren.

Zur Impfung mit abgetöteten Sedimenten benutzte ich 4 verschiedene Streptokokkenstämme: 1) einen schwach virulenten *Str. puerperal*, von dem lebende Kulturen nur bei intravenöser Injektion großer Dosen (5 ccm und mehr) ein Kaninchen in etwa 6 Tagen töten; 2) den Stamm P von mittlerer Virulenz, dos. let. bei subkutaner Injektion 0,8 ccm; 3) den Stamm M, etwas virulenter als P, dos. let. 0,4 ccm; 4) den Stamm B von stärkerer Virulenz, tödliche Dosis 0,01—0,005 ccm. Da die beiden ersten Versuche mit *Str. puerp.* zeigten, daß das sterilisierte Kokkenmaterial sowohl bei subkutaner wie bei intrapleuraler Injektion nur zum geringsten Teil vom Tierkörper resorbiert wurde, wurde bei sämtlichen späteren Versuchen das Sediment stets direkt in die Blutbahn gespritzt.

I. *Str. puerp.*

1) Ein Kaninchen von 1950 g Gewicht erhält subkutan an der Ohrwurzel das auf 65° erhitzte Sediment von 165 ccm Zuckerbouillonkultur des *Str. puerp.* Nach 11 Tagen Gewichtsabnahme bis auf 1750 g, an der Impfstelle ein Absceß, der durchbricht, worauf das Tier sich wieder erholt. In dem sterilen, zähen Eiter zahlreiche Kokken, die sich mit Methylenblau auch beim Erhitzen nicht mehr färben.

2) Einem Kaninchen von 1110 g wird der auf 65° erwärmte Bodensatz von 120 ccm Zuckerbouillonkultur des *Str. puerp.* in die rechte Pleura injiziert. Es wiegt 2 Tage später 1075 g, bleibt weiter gesund. Nach 5 Wochen wird es getötet; in der rechten Pleura wird ein kugliger Körper von ca. 1¼ cm Durchmesser gefunden. Derselbe enthält

eine krümelige Masse, bestehend aus Detritus und Kokken, die leicht gequollen erscheinen und mit Methylenblau nicht zu färben sind.

3) Ein Kaninchen von 1800 g erhält intravenös das auf 63–64° erhitzte Sediment von 30 ccm gewöhnlicher Bouillonkultur. Nach 2 Tagen Gewichtsabnahme bis auf 1600 g, dann erholt sich das Tier wieder.

4) Das Sediment von 165 ccm Zuckerbouillonkultur, vorher auf 63° erhitzt, wird einem Kaninchen von 2100 g intravenös injiziert. 3 Tage später wiegt das Tier 1900 g, nimmt dann wieder zu.

5) Einem Kaninchen von 1200 g wird intravenös das bei 63° abgetötete Sediment von 100 ccm Bouillonkultur injiziert. Das Tier zeigt keine Gewichtsabnahme, bleibt gesund.

II. Str. P.

6) Das Sediment von 100 ccm Bouillonkultur des Str. P, 2 Stunden lang auf 63° erhitzt, wird einem Kaninchen von 1200 g in die Ohrvene gespritzt. Nach 12 Tagen Gewichtsabnahme bis auf 900 g; das Tier stirbt nach 16 Tagen. Die bei der Sektion aus dem Herzblut und den Organen angelegten Kulturen bleiben steril.

III. Str. M.

7) Ein Kaninchen von 1550 g erhält intravenös 5 ccm Sediment von 90 ccm Zuckerbouillonkultur des Str. M, welches bei 63° sterilisiert wurde. Nach 24 Stunden wiegt das Tier 100 g weniger, hat sich aber nach 4 Tagen wieder völlig erholt.

8) Der Bodensatz von 100 ccm Bouillonkultur des Str. M, auf 63° erwärmt, wird einem Kaninchen von 1200 g in die Blutbahn gespritzt. Das Tier wird nicht krank, sondern nimmt an Gewicht zu.

9) Einem Kaninchen von 1730 g wird das mit Formalin abgetötete Sediment von 100 ccm Bouillonkultur des Str. M intravenös injiziert. Nach einem geringfügigen Gewichtsverlust von 80 g am 3. Tage bleibt das Tier weiterhin gesund.

IV. Str. B.

10) Das Sediment einer Bouillonkultur von Str. B (die Größe der Kultur ist nicht notiert) wird nach Erhitzen auf 63–64° einem Kaninchen von 1200 g in die Ohrvene gespritzt. Stirbt nach 24 Tagen. Herzblut und Organe steril.

11) Ein Kaninchen von 1600 g erhält intravenös den bei 63–64° sterilisierten Bodensatz einer Bouillonkultur von Str. B. Es ist nach 12 Tagen bis auf 1250 g abgemagert, dann erholt es sich allmählich wieder.

12) Das auf 63° erwärmte Sediment von 100 ccm Bouillonkultur wird einem Kaninchen von 1330 g in die Blutbahn injiziert. Gewichtsabnahme bis zu 1200 g; das Tier bleibt am Leben.

13) Die Aufschwemmung einer Agarmassenkultur von Str. B wird mit Formalin abgetötet und einem Kaninchen von 1050 g intravenös eingespritzt. Das Tier stirbt nach 5 Tagen; Blut und Organe sind steril.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß in den Körpern der Streptokokken Gifte enthalten waren, welche in einigen Fällen tödlich oder krankmachend wirkten, in anderen Fällen aber einen kaum wahrnehmbaren Effekt hervorbrachten. Die Unbeständigkeit dieser Giftwirkung ist auffallend. Während z. B. in Versuch 3 ein Tier von 1800 g bei Injektion eines

Sedimentes von 30 ccm schwer erkrankt und um 200 g abmagert, bleibt bei Versuch 5 das Tier, welches nur 1200 g wiegt, vollkommen gesund nach der Injektion eines Sedimentes von 100 ccm desselben Streptococcus. Was die geringe toxische Kraft der abgetöteten Kokkenleiber bei einer Anzahl dieser Versuche betrifft, so kann dieselbe unmöglich einer starken Abschwächung des Giftes durch das Erhitzen zugeschrieben werden, da andererseits auch mit den erhitzten Sedimenten zwei tödliche Erkrankungen und mehrere schwere erzielt wurden, ganz abgesehen davon, daß auch das mit Formalin sterilisierte Sediment des virulenten Str. M fast ohne Wirkung auf das geimpfte Tier blieb.

In Bezug auf das Verhältnis der Virulenz der verschiedenen Stämme zu der Giftwirkung ihrer abgetöteten Leiber ergeben die vorliegenden Versuche, daß zwar der stärkste virulente Str. B ein größeres toxisches Vermögen zeigte als der schwach virulente Str. puerp., daß aber dieser letztere seinerseits den virulenten Stamm M übertraf, indem sein sterilisiertes Sediment immerhin noch deutliche Erkrankungen verursachte, während der Str. M. fast unschädlich war. Die Giftigkeit der Streptokokkenleiber ist also keineswegs immer direkt proportional der Virulenz des Streptokokkenstammes.

Nach diesen Resultaten, die jedenfalls nicht hinreichen, um die Phänomene der Streptokokkeninfektion auf die Wirksamkeit eines intracellulären Mikrobengiftes zurückzuführen — wie es Radziewsky (12) versuchte, indem er Pfeiffers Cholera Theorie auch auf die Streptokokkenkrankungen übertragen wollte — wandte ich mich von neuem dem Studium der Frage zu, ob nicht doch unter gewissen Bedingungen der Streptococcus ein Toxin ausscheidet. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit.

[Aus dem kgl. bakteriologischen Institute Camara Pestana zu Lissabon.]
Mitteilung der von dem Marineminister zum Studium der Schlafkrankheit entsandten Kommission, bestehend aus Drs. **Annibal Bettencourt**, **Ayres Kopke**, **Gomes de Rezende** und **Correia Mendes**.

Mit 1 Tafel und 4 Kurven.

(Schluß.)

Mäuse. Der Hypnococcus ist für die Maus pathogen. Wir haben festgestellt, daß in dieser Beziehung ein Unterschied zwischen der gewöhnlichen grauen Maus und der weißen Maus besteht. Bei der ersteren bringen die Kulturen von frisch aus dem Organismus isolierten Bakterien, unter die Haut gespritzt, gewöhnlich keine beträchtliche krankhafte Veränderung hervor. Aber wenn man zur Einimpfung Bakterien verwendet, deren Virulenz vermittelst Passage durch Kaninchen gesteigert ist, so tritt mit Dosen von 0,5–1 ccm frischer Ascitesbouillonkultur in 1–3 Tagen der Tod ein. Eine Dosis von 0,001 ccm ist unschädlich.

Die weiße Maus ist viel empfindlicher; bei dieser bringen Dosen von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ einer Kultur auf Agar manchmal in kurzer Zeit den Tod hervor. Aufeinanderfolgende Passagen erzeugen eine Erhöhung der Virulenz sowohl für die Maus selbst als auch für das Kaninchen.

Affe. Einspritzungen von virulenten Krankheitsstoffen aus dem Körper und von Kulturen unter die Dura mater führen fast immer den Tod des Tieres herbei, bei dem man den *Hypnococcus* im Blute, in den Nervenzentren, in der Milz u. s. w. findet.

Affe I (*Cercopithecus*). Am 29. Januar 1902, nach Trepanation des Schädels, Einspritzung unter die Dura mater von 0,25 ccm Cerebrospinalflüssigkeit, die bei der Obduktion des Kranken XLIV erhalten worden war. Während der ersten 5 Tage hielt sich die Temperatur in der Nähe der Normalen; am 6. Tage fand ein leichtes Ansteigen statt; das Thermometer zeigte morgens 39,6° und abends 39,2°. Dann begann die Temperatur zu fallen und kurz vor dem Tode zeigte sich eine sehr ausgesprochene Hypothermie (die Teilung des Thermometers begann bei 34,5°, die nicht erreicht wurden). Während der letzten 3 Tage war das Tier traurig, apathisch und ließ sich mit der größten Leichtigkeit fangen, ohne sich zu verteidigen.

Die Obduktion wurde 5 Stunden nach dem Tode vorgenommen; wir fanden eine Kongestion der ganzen Wölbung der rechten Hemisphäre (auf dieser Seite war die Trepanation gemacht worden) und eine blutige Sprengelung von dem Umfang eines Markstückes an der Impfstelle; hämoglobinisches Exsudat in der Pleura und im Pericardium; Hepatisation der oberen Lappen bei den Lungen, Kongestion der Eingeweide, die Milz sehr dunkel, aber im Volumen nicht vergrößert.

In direkten Präparaten, die mit oberflächlich abgekratzter Hirnmasse und mit Herzbeutelflüssigkeit gemacht waren, haben wir so zahlreiche Diplokokken angetroffen, daß die Präparate von einer reichlichen Kultur in einem flüssigen Nährmedium herzustammen schienen. Die Aussaaten ergaben den reinen *Hypnococcus*. Im Lungensaft fand sich außer dem *Hypnococcus* ein Bacillus, den wir nicht diagnostiziert haben.

Affe II (*Cercopithecus*). Einimpfung unter die Dura mater von $\frac{1}{5}$ einer 48 Stunden alten Agarkultur (Krankheitsfall XLIV, 4. Generation) am 11. Februar 1902. Während der beiden folgenden Tage war das Tier sehr niedergeschlagen, zitterte beständig und ließ sich leicht fangen. Die Temperatur schwankte zwischen 38,6 und 39,3°.

Dann trat eine gewisse Besserung ein, das Tier fing an zu fressen und gewann seine gewöhnliche Lebhaftigkeit wieder bis zum 23. Februar. Von diesem Tage an verschlimmerte sich der Zustand, die Abendtemperatur schwankte zwischen 39,5 und 40,3° und die Traurigkeit kehrte wieder zurück. Am 2. März zeigte es morgens 38,4, abends 38°. Am folgenden Tage sowohl morgens wie abends 36,6°; am nächstfolgenden Tage morgens 35,2°. An diesem Tage um 17 Uhr wurde es tot gefunden.

Bei der sofort vorgenommenen Obduktion konstatierten wir zahlreiche Blutflecken von lebhafter Farbe auf der ganzen linken und dem vorderen Teil der rechten Hemisphäre (auf dieser Seite war die Einimpfung gemacht worden), unter den Hirnhäuten fand sich kein Exsudat. Ventrikelflüssigkeit etwas trübe. Milz dunkel, größer als normal, nicht sehr diffluent. Etwas Hydropericarditis. Keine Verwachsungen an der Lunge, die in ihrem Parenchym zerstreute Hepatisationszonen zeigte.

Die Aussaaten mit Cerebrospinalflüssigkeit, Milzsaft, Herzblut und Lungensaft aus dem Niveau der Hepatisationsherde lieferten den *Hypnococcus* im Zustande der Reinheit. In den Präparaten aus der Milz sind die Hypnokokken zahlreich, seltener in denen aus Lungen-

saft und Blut, noch seltener endlich in denen aus Cerebrospinalflüssigkeit.

Affe III (*Cercopithecus*) wurde am 11. Februar 1902 mit 0,3 ccm Cerebrospinalflüssigkeit, die am Tage vorher aus der Leiche des Kranken No. LVII entnommen war, unter die Dura mater geimpft. Das Tier wurde am morgen des 2. März 1902 tot aufgefunden. Am Vorabend des Todes war die Temperatur im Rektum, mit einem Laboratoriumsthermometer gemessen, morgens 31°, abends 32°.

Die Obduktion wurde am selben Tage um 13 Uhr gemacht, man fand folgende Läsionen: Kongestion der Pia mater, aber kein Exsudat unter der Hirnhaut, Hydropericarditis, Milz violettfarbig, im Volumen vergrößert, mit rötlichen Flecken an der Oberfläche, verschiedene Hepatizationszonen in der rechten Lunge, die außerdem mit kleinen Infarkten besetzt war und im oberen Lappen einen Bronchopneumonieherd zeigte.

Die mit der Cerebrospinalflüssigkeit angelegten Kulturen zeigten vereinzelte *Hypnococcus*-Kolonien, in den direkten Präparaten war er nicht aufzufinden. Die Kulturen und die direkten Präparate, die mit der Milz angelegt wurden, ergaben positive Resultate. In den Lungen wurde außer dem *Hypnococcus* der gelbe *Staphylococcus* gefunden. Mit dem Herzblut wurde keine Aussaat gemacht, die mit der Herzbeutelflüssigkeit blieben steril.

Affe IV (*Cercopithecus*). Inoculation unter die Dura mater von 0,2 ccm einer 48 Stunden alten Kultur in Ascitesbouillon des *Hypnococcus*, der aus dem Hirnhautexsudat des Kranken No. LII isoliert worden war. Der Tod trat am 10. April um 19 $\frac{1}{2}$ Uhr ein.

Bei der Obduktion fanden wir eine intensive und allgemeine eitrige Peritonitis. Die mit der Cerebrospinalflüssigkeit und dem Blut des Herzens gemachten Aussaaten blieben steril. Das Exsudat des Peritoneums ergab Kulturen verschiedener Mikrobenspecies: Bacillen, Staphylokokken und Streptokokken; keine Kochschen Bacillen. (Dieses Tier hatte eine starke Bauchwunde erlitten, die sicher die Ursache der Peritonitis gewesen ist.)

Affe V (*Cercopithecus*). Es wurde versucht, ihn durch die Nasenhöhle zu infizieren, indem ihm Watte, die mit einer 24 Stunden alten Kultur des *Hypnococcus* getränkt war, am 6. Juli 1902 in den Nasenkanal geschoben wurde. Das Tier ist heute noch am Leben.

Man sieht also, daß auch bei dem Affen der Tod infolge einer, allerdings langsam verlaufenden, Septikämie eintritt. Bemerkenswert ist das Auftreten der Infektion in den Lungen, deren prädisponierende Ursache jedenfalls die sehr niedrige Temperatur sein dürfte, die zur Zeit der betreffenden Versuche herrschte und die an dem Aufenthaltsort der erst kürzlich von Afrika gekommenen Tiere sehr fühlbar war.

Bezüglich der aus den Lungen isolierten Mikroben haben wir stets sorgfältig die Differentialdiagnose mit dem *Pneumococcus* ausgeführt.

Die an der Impfstelle vorhandenen Läsionen besaßen nichts Charakteristisches und entsprachen keiner von den makroskopischen Läsionen, die man an menschlichen Leichen beobachtet; die relativ kurze Dauer der experimentell hervorgerufenen Krankheit gibt eben zur Ausbildung derartiger Läsionen keine Zeit.

Meerschweinchen. Die Versuche an Meerschweinchen waren nicht sehr zahlreich.

Subkutane Injektionen sind erfolglos, auch bei Anwendung ziemlich starker Dosen; so wurden 5 Meerschweinchen von 430—620 g Gewicht

Mengen von 0,1, 0,5, 1, 2 und 3 ccm einer 24 Stunden alten Ascitesbouillonkultur eingespritzt; keins von ihnen ist daran gestorben.

Die Injektionen in das Peritoneum sind nur bei sehr hohen Dosen tödlich, von 5 Meerchweinchen von 420—620 g Gewicht, die mit 0,05, 0,1, 0,5, 1 und 2 ccm geimpft wurden, starben nur die beiden letzten.

Selbst wenn man Kulturen subkutan einspritzt, deren Virulenz für das Kaninchen sehr stark erhöht ist, gelingt es nicht, mit 0,0001 bis 1 ccm Kaninchen von etwa 400 g Gewicht zu töten. Das Meerchweinchen besitzt also eine fast vollständige Unempfindlichkeit gegen unsere Bakterien.

Hühner und Tauben. Die Einimpfungen geschahen in den Brustmuskel mit mehr als 1 ccm von 24 Stunden alten Kulturen, die für das Kaninchen den höchsten Grad der Virulenz besaßen, die Tiere haben sich aber als vollständig unempfindlich erwiesen.

Gifte.

Der *Hypnococcus* erzeugt in den Kulturmedien keinerlei lösliches Gift (Toxine) in wahrnehmbarer Menge. Wenige Tage alte Kulturen bringen keinerlei toxische Wirkung hervor, wenn sie durch Porzellan filtriert sind. Das Filtrat von sehr alten Kulturen ist bisweilen für Kaninchen tödlich, wenn man 10—20 ccm in die Venen oder unter die Haut einspritzt. Indessen sind selbst bei so starken Dosen die Resultate so wenig konstant, daß sie keineswegs erlauben, die Existenz eines löslichen, durch den *Hypnococcus* erzeugten Giftes als bewiesen anzusehen; sie können zum Teil wenigstens durch das Vorhandensein von Substanzen erklärt werden, die von der Desaggregation und der Zerstörung der Bakterien in den Kulturmedien herrühren.

Was Endotoxine, d. h. Gifte des Körpers der Bakterien, selbst angeht, so kann über ihr Vorhandensein kein Zweifel herrschen, aber sehr deutlich ist es nicht. Kulturen von 10—30 Tagen, die durch Chloroform zum Absterben gebracht sind, töten häufig Kaninchen in 8—30 Tagen mit den Erscheinungen des Marasmus, einer beträchtlichen Gewichtsverminderung und oft mit Hypothermie kurz vor dem Tode. Indessen tritt dieser Erfolg bei Dosen von 10—20 ccm nicht konstant ein; solche von 1—5 ccm wirken unregelmäßig und sind in den meisten Fällen unschädlich. Wir haben auch Versuche gemacht, um die Bakterien selbst, die durch Zentrifugieren getrennt und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen waren, einzuspritzen.

Nachstehend einige Resultate von solchen:

Kaninchen No. 25 ET. von 1285 g Gewicht. Subkutane Einspritzung des Sediments von 15 ccm einer 10 Tage alten Kultur im Thermostaten bei 37°. Das Tier starb 5 Tage später, nachdem es 270 g an Gewicht verloren hatte.

Kaninchen No. 27 ET. 1155 g schwer. Einimpfung des Sediments von 30 ccm derselben Kultur, am 15. Mai 1902. Das Tier starb am 28. desselben Monats nach Verlust von 435 g.

Kaninchen No. 28 ET. 1230 g schwer. Einimpfung unter denselben Bedingungen wie vorher. Das Tier starb nach 18 Tagen und hatte 560 g verloren. Bei der Obduktion dieser Tiere findet man keine mit bloßem Auge sichtbare Läsionen.

Das Aronson'sche Bakterienextrakt, das nach dem in der interessanten Arbeit von Wassermann angegebenen Verfahren erhalten wurde, zeigte sich ebenfalls giftig.

Lösungen	Dauer der Einwirkung in Minuten							Bemerkungen
	1/2	1	2	3	5	10	15	
Karbolsäure 1:100	+	+	+	+	+	+	+	Lysol von Schülke & Mayr-Hamburg
" 2,5:100	—	—	—	—	—	—	—	
Lysol " 1:100	+	+	+	+	+	+	+	
" 2,5:100	+	+	+	+	+	+	+	
Trikresol 1:100	—	—	—	—	—	—	—	
Kupfersulfat 5:100	+	+	+	+	+	+	+	
Sublimat 1:1000	—	—	—	—	—	—	—	

Das Zeichen + bedeutet Wachstum der Kultur.

Das Zeichen — bedeutet Ausbleiben des Wachstums nach 8 Tagen.

Wo kein Zeichen steht, ist der betreffende Versuch nicht gemacht worden.

keine so deutliche Kapsel wie dieser. Was beide gemein haben, sind diejenigen Charaktere, in welchen der *Pneumococcus* überhaupt den Bakterien der Streptokokkengruppe ähnelt. Die Verwechslung mit dem *Diplococcus intracellularis meningitidis* von Weichselbaum ist, wie wir bei den neulich in Portugal aufgetretenen Fällen epidemischer Meningitis beobachten konnten, ganz unmöglich. Aus Anlaß eines interessanten kritischen Artikels von Prof. Padua in Coimbra¹⁾, der die beiden Keime für möglicherweise identisch hält, sind wir in unserer letzten Arbeit des näheren darauf eingegangen.

Bezüglich der bakteriologischen Klassifikation muß aber der *Hypnococcus* in der allerdings recht weiten Gruppe der Streptokokken untergebracht werden, deren Einheitlichkeit noch problematisch ist. Fest steht immerhin, daß ein bestimmter *Streptococcus* sich nur durch das Serum von Tieren beeinflussen läßt, die mit ihm selber geimpft worden sind. Das ist ja auch der Ausgangspunkt der Idee der polyvalenten Sera.

Wir wollten dann auch, nach dem Vorgang von F. Meyer²⁾, die Wirkung verschiedener Streptokokkenserum, im Vergleich mit Hypnokokkenserum, auf den *Hypnococcus* bezüglich der Agglutination vergleichen und wandten ein Serum an, das durch successive Einimpfung lebender und toter Kulturen von Hypnokokken, die direkt von Kranken stammten, auf Kaninchen erhalten worden war. Da die Bouillonkulturen leicht Gerinnsel bilden, die die Beobachtung der Agglutinationserscheinung verhindern, bedienten wir uns des von Lubowski³⁾ zum Studium der Agglutination beim Diphtheriebacillus empfohlenen Verfahrens. Wir verwandten 24 Stunden alte Kulturen von Ascitesgelose; die Reaktion wurde in kleinen Röhren von 5 mm Durchmesser ausgeführt, das Serum mittelst des Mischers des Thoma-Zeisschen Apparats zugesetzt und die Röhren wurden im Brutschrank bei 36—37° gehalten. Die Reaktion zeigte sich im allgemeinen nach 2—3 Stunden. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

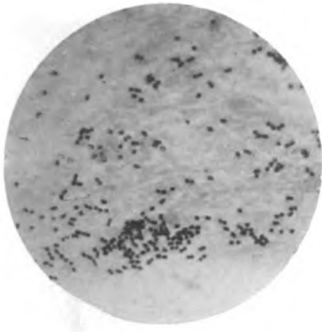
Serum	1:5	1:10	1:20	1:50	1:100
Marmorek	+	+	—	—	—
Tavel	+	+	—	—	—
Aronson	+	Spuren	—	—	—
Hypno	+	+	+	+	—

Wie man nun auch über die Einheitlichkeit oder Verschiedenheit der Streptokokken denken mag, so viel geht aus obigen Versuchen hervor,

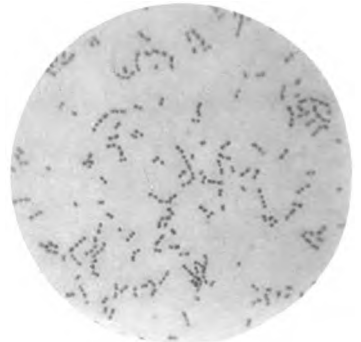
1) O Movimento medico. Bd. I. 1901. p. 277.

2) Deutsche med. Wochenschrift. 1902. No. 42.

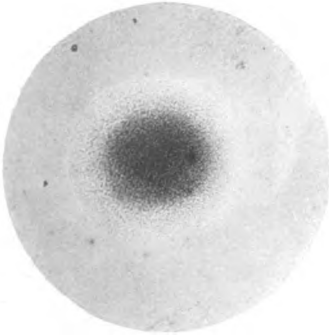
3) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XXXV. 1900.



1



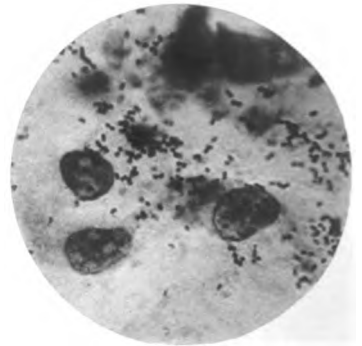
2



3



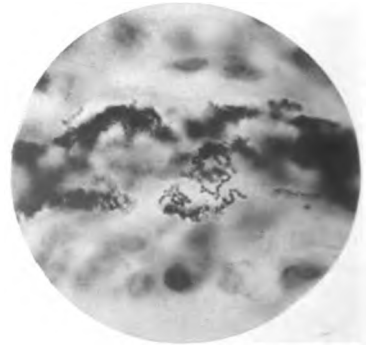
4



5



6



7

daß ein und dasselbe Serum nicht gleichmäßig auf sie wirkt und daß ein und derselbe *Streptococcus* von den verschiedenen Seren ungleich beeinflußt wird. In unserem Falle bewirkten die Sera von Tavel und Marmorek die Agglutination in den Verdünnungen 1:5 und 1:10, das von Aronson scharf bei 1:5 und spurenweise bei 1:10; dagegen bewirkt unser Serum die Agglutination noch in der Verdünnung 1:50.

Lissabon, Juni 1903.

Erklärung der Tafel.

- 1) Cerebrospinalflüssigkeit, bei Obduktion eines Falles von Schlafkrankheit entnommen. Loefflersches Blau. Vergr. 1000:1.
- 2) 24-stündige Kultur in Ascitesbouillon. 1000:1.
- 3) 48-stündige Kolonie auf Glycerinagar. 50:1.
- 4) Thrombose im Innern eines Gefäßes. Schnitt durch die Protuberanz. 230:1.
- 5) Hypnokokken in den Hirnhäuten. Gegend des rechten Mittellappens. 1000:1.
- 6) Hypnokokken im Innern eines Gefäßes des rechten Praecuneus. 1000:1.
- 7) Ein Teil des Gefäßes. Fig. 4 bei Vergr. 1000:1.

Nachdruck verboten.

Gelbfieber und Mosquitos.

[Instituto bacteriologico do l'Estado.]

Eine kritische Studie.

Von Ivo Bandi, S. Paulo (Brasilien).

Außer vielen epidemiologischen Beobachtungen, die in völligem Widerspruch zu der Hypothese von der Verbreitung des gelben Fiebers durch *Stegomyia fasciata* stehen, gibt es eine sehr interessante Einzelheit in der Ethologie dieser Mückenart, die der neuen ätiologischen Theorie ungünstig ist.

Stegomyia fasciata ist eine Tagmücke; diese Tatsache ist vollauf durch sorgsame, an vielen Orten in letzter Zeit angestellte Beobachtungen bezeugt.

So schreibt Theobald z. B. in seiner „Monographie über die *Culicidae* der Welt“: „Betreffs *Stegomyia fasciata* sagt Dr. George Gray, daß sie einer der lästigsten und verbreitetsten Mosquitos ist und sehr bössartige Stiche früh am Nachmittage, etwa von 1—3 Uhr, versetzt.“

Weiter wird hinzugefügt: „Sowohl *Culex* wie *Anopheles* sind am lästigsten in der Nacht, etwa 1 Stunde vor Sonnenuntergang bis kurz vor Sonnenaufgang. Aber selbst wenn wir uns während dieser Stunden vor ihnen schützen, werden wir doch nicht ganz unbelästigt von ihnen bleiben, da einige Arten zu anderen Zeiten stechen, wie z. B. die weitverbreitete *Stegomyia fasciata* und der europäische *Culex dorsalis*.“

In seinem „Bericht über die Expedition zur Erforschung des gelben Fiebers in Parà“, der in dem Thompson Yates Laboratory Report. Vol. IV. Part II. May 1902 abgedruckt ist, sagt Dr. Durham: „Diese Art (*Stegomyia fasciata*) ist in Parà lediglich eine Tagmücke; sie lieferte daher leicht Beobachtungsmaterial. Sie fliegt umher und sticht kurz nach Sonnenaufgang gegen 6 Uhr morgens. Andere hat man wieder zwischen 8 und 9 Uhr morgens stechen sehen. Dann tritt eine Pause

ein bis gegen 11 Uhr, wo sich wieder einige auf Nahrungssuche begeben.

Ihre Haupttätigkeit fällt in die Mitte des Tages, etwa von 12 bis 2 Uhr. Dann stechen sie leicht und paaren sich häufig im Fluge. Es folgt alsdann eine zweite Pause, während der immerhin einige umherfliegen, aber sie stören einen nicht bei der Arbeit am Mikroskop bis etwa zu der Zeit von $\frac{1}{2}$ 4 bis gegen 5 Uhr des Nachmittags. Nach Eintritt der Dämmerung ist mir nur ein Exemplar begegnet; dies war ein Männchen, das aus einer Zuckerschale, ungefähr gegen 7 Uhr abends, fraß.¹⁾

In Ficalbis Arbeit: „*Venti specie di zanzare (Culicide) italiane classate, discritte etc.*“ heißt es in dem Kapitel über die Lebensgewohnheiten der *Culicidae*: „Hinsichtlich des ausgewachsenen Insektes konstatiere ich wiederum, daß kein Moskito, möge er auch die Gewohnheit haben, bei Tage zu fliegen, ein zu helles Licht oder zu grelle Sonne liebt; es gibt indessen Tagmücken, welche man ausschließlich Tagmücken nennt, wie *Culex elegans (Stegomyia fasciata)*, von denen der größere Teil trotzdem Dämmerungs- oder Nachtmücken sind.“

Außerdem sagt er: „*Culex elegans* ist eine Mücke, die manchmal interessante ethologische Kennzeichen aufweist. Sie ist eine Tagmücke und kann den am Studiertisch oder Mikroskop Arbeitenden sehr belästigen.“

Dr. Thompson sagt in einem Vortrage über Moskitos und Malaria mit Bezug auf *Stegomyia fasciata*: „Wir haben den dazu passenden *Culex*, der leicht das gelbe Fieber von Mensch zu Mensch überträgt, einen Moskito, mit dem wegen seiner Angewohnheit, sich am Tage Nahrung zu suchen, schwerer zu rechnen ist als mit *Anopheles*.“

Dr. Lutz nennt *Stegomyia fasciata* einen „gefleckten Tagesmoskito“.

Auch Finlay stellte für Havanna fest, daß *Stegomyia fasciata* sich daselbst am Tage seine Nahrung sucht.

Zweifelsohne können wir daher, gestützt auf sorgsame Beobachtungen namhafter Autoritäten, *Stegomyia fasciata*, wenn auch nicht als einen ausschließlichen Tagesmoskito, so doch als eine Mücke betrachten, die hauptsächlich bei Tage sticht, sei dies nun in der tropischen oder in der gemäßigten Zone.

Es ist interessant, festzustellen, daß man gelbes Fieber meist nachts bekommt.

Es ist bekannt, daß der Mensch in den Tropen, der sich bei Nacht außerhalb der infizierten Zone hält, gegen die Krankheit völlig immun ist. Noch mehr, diese Immunität ist eine absolute für die Leute, die den Tag in Rio de Janeiro zubringen und des Abends nach Petropolis gehen.

Denn um eine ätiologische Beziehung zwischen *Stegomyia fasciata* und dem gelben Fieber festzustellen, müßte man beweisen können, daß dieser Moskito wenigstens eine Dämmerungsmücke ist, wenn wir den

1) Bemerkenswert ist, daß Durham, obschon er die Verbreitung des gelben Fiebers zuläßt, es nicht für möglich hält, daß *Stegomyia fasciata*, eine Tagmücke, dem Keim des gelben Fiebers zeitweilig als Wirt dient, sondern nur *Culex fatigans*, die nach Eintritt der Dämmerung sticht. Er bringt eine in dieser Hinsicht interessante Tatsache bei. Er sagt nämlich: „*Culex fatigans* war nicht sehr häufig in der Gegend des „Hospital Domingos Freire“ (gelbes Fieber), und das erste Mal, wo er sich zeigte, fiel mit einem spontanen Fall von gelbem Fieber zusammen. Hingegen war *Stegomyia fasciata* daselbst sehr häufig anzutreffen.“

besonderen Umstand in Betracht ziehen, daß die „Diarios“ von Petropolis sich in Rio de Janeiro von halb elf des Vormittags bis halb vier ungefähr des Nachmittags aufhalten.

Doch dies ist, wie gesagt, noch nicht bewiesen. Diese Feststellung würde natürlich die neue ätiologische Hypothese erschüttern. In einer Arbeit, die dem Leiter des öffentlichen Gesundheitsdienstes von Brasilien wie auch dem 5. medizinischen Kongreß in Rio de Janeiro mitgeteilt wurde, suchten die DDr. Simond und Marchoux diese Erscheinungen folgendermaßen zu erklären:

„Infolge der von uns gemachten Beobachtungen sind wir der Ansicht, daß *Stegomyia fasciata*, wenn einmal infiziert, am Tage nicht wieder sticht. Möglicherweise erleidet diese Regel Ausnahmen; doch ist anzunehmen, daß sich die Sache für gewöhnlich so verhält, wenn man die Immunität von Personen erklären will, die sich vor *Stegomyia fasciata* während der Nachtzeit schützen.“

Dieser Hypothese gegenüber bemerken wir erstens, daß wir nicht begreifen können, warum das Einsaugen von Blut eine derartige Störung in den physiologischen Kräften von *Stegomyia* hervorrufen und eine ihrer wichtigsten ethologischen Kennzeichen völlig in das Gegenteil verkehren soll.

Ferner bemerken wir, daß diese Hypothese mit der bereits erwähnten Feststellung im Widerspruch steht.

Wir können nicht zugeben, daß alle über Mosquitos gemachten Beobachtungen gerade an solchen Tieren gemacht sind, die zum erstenmal Blut saugen. Ueberdies erinnere ich mich, in der Mitte des Tages viele mich stechende *Stegomyiae* in meinem Arbeitszimmer im Gelbfieber-Hospital von S. Sebastião in Rio de Janeiro gefangen zu haben; die mikroskopische Untersuchung ihres Verdauungsapparates zeigte, daß sie Blut gesogen hatten. Interessant ist in diesem Falle, daß mein Arbeitsraum im Hospital von S. Sebastião an die Krankensäle stieß; es ist daher anzunehmen, daß der größte Teil der von mir gefangenen *Stegomyiae* vorher nicht nur Blut gesogen hatte, sondern nach DDr. Simond und Marchoux auch „infiziert“ war. Betrachten wir *Stegomyia fasciata* in der Gefangenschaft, so sehen wir, daß die Hypothese von Simond und Marchoux sich lediglich auf Einbildung stützt.

Dr. Durham sagt mit Bezug auf das Thema: „In dieser Verbindung ist es von Interesse zu bemerken, daß alle von der amerikanischen Kommission ausgeführten künstlichen Infektionen durch Mücken am Tage gemacht wurden und die hierbei benutzte Spezies *Stegomyia fasciata* war.“

Die im Hospital in S. Paul (Brasilien) angestellten Experimente wurden gleichfalls bei Tage ausgeführt. Forscher, welche Beobachtungen über die Eigenschaften des Blutsaugens von *Stegomyia fasciata* gemacht haben, werden bemerkt haben, wie gierig dieses Insekt ist. Man kann es leicht dazu bewegen, am Tage zu stechen, wenn man es auf einen Menschen oder auch ein niedrigeres warmblütiges Tier setzt; die Mücke sticht, selbst wenn sie zuvor Blut gesogen und dieses Blut noch nicht ganz verdaut hat.

Dr. Ficalbi sagt, daß ein im Laboratorium ausgekommenes Weibchen von *Culex elegans* (*Stegomyia fasciata*) am 2. Tage seines Lebens wie ein ausgewachsenes Insekt zu stechen versuchte, am 3. Tage auch wirklich stach, sich vollsog und verdaute, indem es während der folgenden 3 Tage Exkremeute von sich gab. Am 4. Tage, nachdem es ihn gestochen hatte,

saß es wieder auf seiner Hand und füllte sich wieder mit Blut, obgleich das vor 4 Tagen eingesogene nur teilweise verdaut war. Andererseits ist es bekannt, wie schwer es ist, Moskitos ausschließlich nächtlich zu machen, da *Culex fatigans* oder *Culex pipiens* auch bei hellem Licht stechen.

Wir müssen annehmen, daß *Stegomyia fasciata*, die besonders eine Nachtmücke ist, ihre Fähigkeit, bei Tage zu stechen, weder in der Freiheit noch in der Gefangenschaft einbüßt, auch wenn sie gesundes oder, in dem Sinne von Simond und Marchoux, „infiziertes“ Blut gesogen hat. Sie wird die Gelegenheit, bei Tage Blut zu saugen, nicht vorübergehen lassen, besonders wenn ihre natürliche Gefräßigkeit durch langes Fasten erhöht worden ist.

Daher ist die Hypothese der DDr. Simond und Marchoux, die den anscheinenden Widerspruch zwischen Ursache und Wirkung bei der neuen Theorie von der Aetiologie des gelben Fiebers erklären sollte, nicht, wie sie meinen, eine allgemeine Regel mit wenigen Ausnahmen, sondern nur eine seltene Ausnahme von der allgemeinen Regel.

Nachdruck verboten.

Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege.

Von **Paul Steiger**,

Dr. med. vet. in Wattenwil bei Bern (Schweiz).

Verschiedene Schriftsteller haben Mitteilungen über den Bakterienbefund bei der Mastitis der Haustiere veröffentlicht. Trotz der Bedeutung dieser Befunde ist die Zahl der durchgeführten Untersuchungen keine so große, daß eine nochmalige Bearbeitung dieses Gegenstandes überflüssig erscheinen könnte.

Bevor ich indessen die bakteriologischen Befunde zur Sprache bringe, sei kurz erwähnt, welche Formen der Mastitis heutzutage unterschieden werden.

Als bekannteste und neueste Werke können diejenigen von Möller und Frick (39) und Bayer und Fröhner (2) und Dieckerhoff (7) gelten. Die ersten Verfasser haben für die Einteilung der Euterentzündungen den Verlauf und die Ausgänge zu Grunde gelegt. Sie unterscheiden zwischen akuten und chronischen Euterentzündungen; zu den ersteren zählen sie die phlegmonöse Euterentzündung, den Euterkatarrh, die eiterige oder abscedierende und die gangränöse Form, als chronische Leiden betrachten sie den gelben Galt, die Eutertuberkulose, die Aktinomykose und Botryomykose des Euters.

In der großen Chirurgie von Bayer und Fröhner (2) gibt Vennersholm eine Uebersicht der verschiedenen Einteilungsmethoden, die er für die Praxis unzureichend hält. Er äußert sich dann in zurückhaltender Weise dahin, daß man eine einzige Hauptform von Mastitis annehmen sollte, die eben aus verschiedenen Ursachen unter einem vielfach wechselnden Symptomenbild aufträte, indem sie sich entweder an das Drüsenparenchym selbst oder an die Cisterne und die größeren Milchgänge halte, oder sich im interstitiellen und subkutanen Bindegewebe verbreite.

Dieckerhoff (7) hat gegen die übliche Einteilung manches einzuwenden. Insbesondere scheint ihm die Aufstellung einer interstitiellen, katarrhalischen und parenchymatösen Mastitis für das Verständnis der Euterkrankheiten unpassend zu sein. Nach dem Verlaufe wird eine akute und eine chronische Euterentzündung unterschieden. Die große Mehrzahl der Mastitiden zählt er zu den chronischen Formen. Der Reihe nach beschreibt er eine Mastitis apostematosa, catarrhalis, parenchymatosa, septica (gangräneszierende) und eine ansteckende Form der Euterentzündung (Galt).

Die mir geläufige, nach dem Vorschlage von Leblanc (33) aufgestellte Einteilung der Euterentzündungen ist folgende:

A. Akute Entzündungen.

1) Die Galaktophoritis, deren milde Form den Euterkatarrh darstellt, während die schwersten Formen dieses Leidens zu Nekrose der Drüsengänge und Absceßbildung führen und als nekrotisierende Galaktophoritis zu bezeichnen sind. Eine besondere Art dieser Galaktophoritis ist der enzootische unter dem Namen gelber Galt bekannte Katarrh.

2) Die akute Entzündung mit spezieller Lokalisation in den Alveolen stellt die Mastitis parenchymatosa dar; sie geht nicht in Eiterung über, gelegentlich dagegen in Nekrose; ein fernerer Ausgang derselben ist die Verhärtung des Euters. Der gewöhnlichste Ausgang ist glücklicherweise die Resolution.

B. Chronische Formen.

Die chronische Galaktophoritis umfaßt den sporadischen Galt, der hie und da zur Bildung kleiner Cysten führt, und außerdem die Entzündungen, die durch Eindringen von großen Fremdkörpern durch den Zitzenkanal bedingt sind und die aus der oben erwähnten akuten nekrotisierenden Galaktophoritis hervorgehen.

Die tuberkulöse, die aktinomykotische und die botryomykotische Mastitis werden durch die besonderen in der Bezeichnung erwähnten Organismen bedingt.

Beim Vergleich der Erscheinungen, des Verlaufes und des Ausganges der in der Literatur mit verschiedenen Namen belegten Euterkrankheiten kommt man zu dem Schlusse, daß viele dieser Leiden miteinander identisch sind. Was Möller und Frick als Euterkatarrh bezeichnen, nennen wir sporadischen Galt oder chronische Galaktophoritis, die eiterige oder abscedierende Form derselben entspricht der schweren Form der akuten Galaktophoritis, die gangränöse Mastitis ist eine Unterabteilung der parenchymatösen Erkrankung des Euters. Eine eiterige aber abscedierende Form der letzteren kommt nicht vor. Die Ausdrücke gelber Galt und Eutertuberkulose werden überall in dem gleichen Sinne gebraucht.

Alle Formen von Euterentzündung sind nach der Ansicht vieler zeitgenössischer Autoren infektiöser Natur und werden durch Stäbchen und Kokken verursacht, welche durch Zersetzung der Milch bei der Bildung von Milchsäure und Bakteriotoxinen auf das Drüsengewebe schädlich wirken. Speziell sei erwähnt, daß Streptokokken den sporadischen und gelben Galt, Tuberkelbacillen ausschließlich die Tuberkulose verursachen, während die durch Fremdkörper erzeugte schwere Form der Galaktophoritis und die parenchymatöse Mastitis durch verschiedene

Arten von Bakterien bedingt werden können. Nicht zum mindesten auf dieser Multiplizität der pathogenen Mikroorganismen beruht die Tatsache, daß beide Krankheiten verschiedene Intensitäten und Ausgänge und ein wechselndes Symptomenbild zeigen.

Die Beziehung zwischen den Mikroorganismen und der Euterentzündung wurde zum erstenmal im Jahr 1876 von Frank (10) festgestellt, indem er faulende Fleischflüssigkeit und Eiter aus einem kranken Kuheuter in den Zitzenkanal spritzte und dadurch schwere parenchymatöse Euterentzündungen erzeugte. Die Natur der im kranken Milchdrüsensekret gefundenen Mikroorganismen beschrieb er nicht näher.

Der Infektionsstoff drang nach Ansicht des Autors durch den Zitzenkanal in die Drüse vor (ascendierende oder aufsteigende Infektion). Mit diesem Umstand brachte er die Tatsache in Verbindung, daß die Euterentzündungen häufiger bei milchenden als bei trockenstehenden Kühen zu beobachten sind.

Nocard und Mollereau (42) waren die ersten, welche im Drüsensekret von 10 Kühen, die an einer sehr kontagiösen Euterentzündung litten, das konstante Vorkommen von Streptokokken bewiesen und experimentell durch Impfung virulenter Kulturen in die Milchcisterne bei gesunden Tieren die gleiche Krankheit erzeugten. Dieser Mikroorganismus wuchs in allen Kulturmedien in 6—8-gliedrigen, oft aber in sehr langen Ketten; das Korn war nicht ganz $1\ \mu$ groß, rund oder oval. Aërob und anaërob gedieh er in zuckerfreien und zuckerhaltigen Substraten; letztere wurden rasch sauer und die Streptokokken gingen darin zu Grunde. Im Peptongelatinestich bildete sich an der Oberfläche ein weißes oder durchscheinendes Häutchen, während in der Tiefe vom Stichkanal aus feine Aestchen nach den Seiten abgingen. Die Gelatine wurde nie verflüssigt. In ungezwungener Weise läßt sich dieser Mikroorganismus mit dem von Guillebeau aufgestellten *Streptococcus mastitis contagiosae* identifizieren.

Unzweifelhaft handelte es sich hier um die in der Schweiz als „gelber Galt“ bekannte Krankheit. Die beiden französischen Forscher vermuten, daß die Ansteckung einzig durch den Strichkanal stattfindet und zwar sowohl durch die Hände der Melker als auch vom Stallboden, von der Jauche und von der Streue aus.

Dieselbe kontagiöse Form der Mastitis ist später von Lucet (38) erörtert worden, welcher im wesentlichen Nocard's und Mollereau's, Angaben bestätigt, indem er den gefundenen *Streptococcus* mit demjenigen der genannten früheren Forscher identisch erklärt.

Falletti (8) beobachtete bei Kühen 2 Fälle von kontagiöser parenchymatöser Euterentzündung und bestätigt das Vorkommen besonderer Streptokokken in der Milch.

Wie die Untersuchungen von Frank, Nocard und Mollereau waren auch diejenigen von Kitt (27) für die Aetiologie der Euterentzündungen von großer Tragweite.

Der von L. Frank begründeten Infektionstheorie der Mastitis parenchymatosa sich anschließend, hat Kitt 1885 weitere Beweise dafür gebracht, indem er durch Injektion von Reinkulturen diverser Spaltpilze ins Euter Mastitiden erzeugte.

Nach Kitt ist nicht jede beliebige Art von Mikroorganismen imstande, Mastitiden hervorzurufen; nach galaktogener Impfung von Flüssigkeit, welche die Bacillen des malignen Oedems in Menge enthielt, entstand keine Entzündung; ebenso war die Injektion einer Kultur von

Oidium lactis und des *Micrococcus tetragenus* unschädlich; hingegen verursachten die Bacillen blauer Milch und das Hühnercholera-virus einen Euterkatarrh.

Aus 2 verschiedenen Fällen von Mastitis parenchymatosa erhielt Kitt die gleiche Art von Mikroorganismen, die er bei der schwankenden Form der Individuen, die bald rund, bald länglich und mit zentralen oder mehr auf einem Ende liegenden Einkerbungen, bald auch in kurzen Ketten und Fäden sich vorfanden, als Diplo- und Mikrokokken betrachtete. Später nannte er sie dann *Bacillus phlegmasiae uberis* und wollte sie mit den Guillebeauschen Bacillen identifiziert wissen.

Als botanische Merkmale seiner Mastitisbakterien führt Kitt folgendes an: Die Bakterien sind mit Anilinfarben gut färbbar, jedoch nicht nach der Gramschen Methode; im hängenden Tropfen sind sie träge beweglich, Gelatine wird nicht verflüssigt, auf Kartoffeln bildet sich ein dicker, grauweißer, mit schmutzig-gelbem Ton versehener Belag, Milch wird rasch sauer und gerinnt, in milchzuckerhaltiger Bouillon entstehen oft Luftblasen. Gestützt auf die morphologischen und biologischen Wachstumsverhältnisse des *Bacillus phlegmasiae uberis* muß dieser heute als *Colibacillus* aufgefaßt werden, wie es durch die sorgfältigen Untersuchungen des Streit (47) und Jensen (24) festgestellt worden ist.

Reinkulturen dieser Bakterien wurden Kühen in den Milchbehälter injiziert, was ebenfalls schwere Euterentzündungen verursachte. Im Sekret der geimpften Striche fand Kitt die gleichen Bakterien wieder.

5 weitere Experimente mit gleichen Mastitisbakterien machte Kitt (28) in den Jahren 1888—1890, indem er durch Abstreichen virulenter Bakterienkulturen an der Zitzenmündung eines oder mehrerer Viertel in allen Fällen schwere Euterentzündungen hervorrief; einmal trat die Entzündung erst 14 Tage nach der Impfung auf.

Die Injektion des *Staphylococcus pyogenes aureus* verursachte nur eine leichte Entzündung des Viertels und abnorme Sekretion während 3 Tagen. Schwerer waren die Folgen für das Euter nach der Impfung des Rauschbrandbacillus. Die Entzündung war eine intensive und das Sekret war lange Zeit stark verändert. Eine beträchtliche entzündungserregende Wirkung hatte die Injektion des *Botryococcus ascoformans*.

Nocard (41) beschreibt 1887 einen Fall von kontagiöser Euterentzündung beim Schaf mit großer Neigung zu Gangrän. Aus dem pathologischen Sekret des Euters züchtete er einen *Micrococcus*, der nach Einspritzung in die Zitze die gleiche Krankheit wieder erzeugte. Derselbe zeigte alle Kulturmerkmale des *Staphylococcus mastitidis*. Er war nur durch eine ungewöhnlich große Virulenz für das Schafeuter ausgezeichnet.

Hess und Borgeaud (20) machten 1888 Untersuchungen über den gelben und sporadischen Galt, Mastitis catarrhalis infectiosa, und fanden bei beiden Leiden Streptokokken, die, in Reinkultur auf Ziegen übertragen, wieder die gleiche Krankheit erzeugten. Sie können die Versuche von Nocard und Mollereau betreffs des Infektionsstoffes durchaus bestätigen. Die gefundenen Streptokokken sind vollständig gleich denjenigen, welche Nocard beschrieben und abgebildet hat, und müssen daher wie diese in die Species des *Streptococcus mastitidis contagiosae* eingereiht werden.

Im Jahr 1889 hat Bang (1) das Sekret aus mehreren kranken

Eutern untersucht und fast immer bestimmte Bakterienformen nachgewiesen; oft fand er eine, oft zwei, oft mehrere Arten in ein und demselben Sekret. Durch Impfung von Reinkulturen in die Zitzen gesunder Euter hat er wieder Euterentzündungen von gleichem Charakter und gleichem Verlaufe erzeugt. Der Autor gibt daher der Vermutung Raum, daß die Euterentzündungen nicht auf einen einzigen spezifischen Parasiten zurückgeführt werden können, sondern daß sie durch Einführung verschiedener Bakterienarten verursacht werden, die der Krankheit je-weilen ein anderes Bild geben.

In einem Bestand von 40 Kühen fand er in wenig Monaten 10 Fälle von kontagiösen Euterentzündungen, deren Hauptideiung das stark veränderte Sekret bei geringen Gewebsveränderungen war, und die mit Atrophie der ergriffenen Drüsenpartie endigten. Im Sekret sah Bang Streptokokken in kurzen Ketten, die leicht in Reinkultur zu züchten waren. In Bouillon, auf Gelatine und Agar zeigten dieselben gutes Wachstum, am besten bei 37° C. In der Stiehkultur ist kein Oberflächenwachstum vorhanden; für Mäuse waren sie pathogen; Milch wurde nicht sauer und gerann nicht.

In einem sporadischen Fall von chronisch purulenter Mastitis isolierte er ebenfalls einen *Streptococcus*, der aber in sehr langen Ketten wuchs und nach der Impfung Induration und Atrophie des Euters bedingte. In den Platten waren die Kolonien kleiner und rundlicher, der Pilz weniger pathogen für Mäuse als die oben erwähnten; sonst war diese Bakterienart mit der obigen sehr ähnlich betreffs ihrer biologischen Eigenschaften.

In einem anderen Fall, in dem er in einer Milchprobe Streptokokken nachwies, konnte nach Uebertragung ins gesunde Euter keine Entzündung hervorgerufen werden.

Bei einem 4. *Streptococcus* fand er die einzelnen Körner größer und die Kolonien zeigten eine etwas andere Form in den Kulturplatten als die im ersten Falle, so daß der Autor hier eine andere Form vor sich zu haben glaubte.

Obwohl die Bangschen Kettenkokken in ihren morphologischen, biologischen und kulturellen Eigenschaften nicht völlig miteinander übereinstimmen, müssen sie doch zu den Mastitisstreptokokken gerechnet werden, da Gröning in seinen „Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens“ die botanischen Merkmale dieser Pilze als ziemlich variierende gefunden hat. Ich vertrete daher die Ansicht, daß sie zu der später von Guillebeau aufgestellten Art des *Streptococcus mastitidis sporadicae et contagiosae* gehören; durch die Symptome, den Verlauf und die Ausgänge der von Bang zitierten Mastitisfälle wird diese Annahme wesentlich unterstützt.

Bang fand weiter eine Bakterienform, die er als Uebergang zu den Streptokokken betrachtete, weil sie meist in Diplokokkenform, selten in kurzen Ketten auftrat und im Agarstich wie die Streptokokken als körniger Strich wuchs. Er hatte dieselben aus dem an Abscessen leidenden Euter einer Kuh isoliert und bei der Verimpfung auf eine zweite Kuh veranlaßte der Mikroorganismus nur eine Atrophie der Milchdrüse. Eine geimpfte Maus starb nach 2 Tagen. Bei den wenigen Angaben über botanische Eigenschaften dieses Mikroorganismus ist es schwer, denselben in die Reihen der heute bekannten Mastitisbakterien einzustellen. Am ehesten ist er den Streptokokken und zwar der kurzen Form beizuzählen.

Von 2 Fällen parenchymatöser Mastitis erhielt er Reinkulturen von Staphylokokken, die nach Ueberimpfung auf andere Tiere dieselben Veränderungen hervorriefen wie in den spontanen Erkrankungen. Nach der Beschreibung des Autors gehören diese beiden Mikroorganismen zu der von Guillebeau als *Staphylococcus mastitidis* bezeichneten Species von Bakterien.

Bang berichtet endlich von 3 Fällen, wobei er 2mal ein kurzes, dickes, Gelatine nicht verflüssigendes, 1mal ein Gelatine verflüssigendes Stäbchen im Sekret fand. Diese 3 Fälle heilten rasch ab. Jedesmal hat er durch Impfung dieser Bakterien in gesunde Euter ebensolche Mastitiden erzeugt. Nach den wenigen Angaben über Morphologie, Biologie und Kulturversuche zu urteilen, handelte es sich bei den Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchen wahrscheinlich um Coli-Bacillen. Dem Gelatine verflüssigenden Stäbchen schreibt der Forscher selbst als Krankheits-erreger wenig Bedeutung zu, weil nebst dem Stäbchen noch Mikrokokken im Sekret waren und eine mit dem betreffenden Bacillus gemachte Impfung in die Cisterne nur eine rasch abheilende leichte Euterentzündung verursachte. Eine Anreihung dieses Stäbchens an eine bekannte Form ist unmöglich.

Im Jahre 1890 veröffentlichte Guillebeau (15) eine umfangreiche Arbeit über Ursachen der Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. Besondere Aufmerksamkeit schenkte er dem Vorkommen von Bakterien im Sekret der entzündeten Euter. In 76 von ihm untersuchten Fällen fand er jedesmal Bakterien im kranken Sekret und zwar 69mal nur 1 Art in Reinkultur, 7mal 2 Arten, beide pathogen, zusammen eine Mischinfektion veranlassend. In diesen 83 Einzelbefunden von Bakterien glaubt Herr Guillebeau auf Grund ihrer Wachstumsmerkmale 10 Arten zu erkennen, und zwar

- 3 Species die Gelatine nicht verflüssigende Kokken,
- 1 " die Gelatine verflüssigende Kokken,
- 2 " Streptokokken,
- 3 " die Zuckergelatine nicht verflüssigende, aber gaserzeugende Stäbchen,
- 1 " Gelatine verflüssigende Stäbchen.

5 dieser Arten waren häufig, 5 weniger häufig zu finden.

Um den Nachweis zu erbringen, daß diese Organismen die Krankheit zu verursachen im stande sind, wurden 32mal Kulturen dieser Bakterien in das Euter von Kühen und Ziegen eingespritzt. Jedesmal gelang es bei völlig gesunden Tieren eine Euterentzündung zu erzeugen.

Die gefundenen Species wurden in folgender Weise bezeichnet (s. Tabelle p. 332).

Lucet (37) untersuchte bakteriologisch 22 Fälle von Euterentzündung bei Kühen und anderen Tieren und behandelte jeden bakteriologischen Einzelbefund besonders. Der Autor fand 12mal bei Kühen einen nach Gram nicht färbbaren, Gelatine nicht verflüssigenden Bacillus von 1 - 2 μ Länge, 7mal nach Gram färbbare, Gelatine verflüssigende Kokken, 2mal Streptokokken, die nach Gram färbbar waren, Gelatine nicht verflüssigten und auf Kartoffeln schwaches Wachstum zeigten.

Eine Vergleichung dieser botanischen Einteilung mit derjenigen von Guillebeau und Streit gestatten, den zuerst erwähnten Bacillus mit den Coli-Bacillen, den zweiten Befund mit dem *Staphylococcus mastitidis* und den dritten mit dem *Streptococcus mastitidis sporadicæ* in ungezwungener Weise zu identifizieren.

Uebersicht der Bakterien, welche in der Milch entzündeter Euter gefunden wurden.

Kokken	10-proz. Milchgelatine wird verflüssigt	Wachstum auf Kartoffeln	Kartoffelkultur dürrtig, weiß, citronengelb oder dunkelbraun	Staphylococcus mastitidis
			Kartoffelkultur dürrtig, weiß oder ockergelb	Galactococcus versicolor
			Kartoffelkultur üppig, weiß	Galactococcus fulvus
Stäbchen	(Gelatine wird nicht verflüssigt)	Kein Wachstum auf Kartoffeln	Flüssige Kulturen nicht gallertig	Streptococcus mastitidis sporadicae
				Streptococcus mastitidis contagiosae
				Bacillus Guillebeau a
				Bacillus Guillebeau b
				Bacillus Guillebeau c
Stäbchen	(Gelatine nicht verflüssigend, bei Zuckerzusatz Gasentwicklung)	Flüssige Kulturen gallertig	Gelatinekultur nicht fadenziehend	Bacillus Guillebeau a
			Gelatinekultur fadenziehend	Bacillus Guillebeau b
Stäbchen	(Gelatine wird verflüssigt und beim Schütteln intensiv dunkelgrün gefärbt)	Flüssige Kulturen gallertig	Gelatinekultur nicht fadenziehend	Bacillus Guillebeau c
				Chlorobacterium lactis

Diese Organismen gedeihen sehr gut in Bouillon, Gelatine und auf Kartoffeln. Betreffs der Häufigkeit der einzelnen Arten fand Guillebeau folgendes Verhältnis:

Staphylococcus mastitidis	33 = 38,4 Proz.
Galactococcus versicolor	12 = 14,0 "
" fulvus	5 = 5,8 "
" albus	2 = 2,3 "
Streptococcus mastitidis sporadicae	8 = 9,3 "
" " contagiosae	3 = 3,5 "
Bacillus Guillebeau a	20 = 23,3 "
" " b	1 = 1,16 "
" " c	1 = 1,16 "
	<hr/> 86 = 100 Proz.

Bei den Mischinfektionen war fast jedesmal der eine Komponent entweder Staphylococcus mastitidis oder Bacillus Guillebeau a.

Nach Guillebeau ergeben sich für die einzelnen Krankheitsformen folgende Bakterienbefunde:

Parenchymatöse Euterentzündung		Sporadischer Galt	
Staphylococcus mastitidis	9mal	Staphylococcus mastitidis	8mal
Galactococcus versicolor	1 "	Galactococcus versicolor	1 "
Bacillus Guillebeau a	10 "	" fulvus	1 "
" " b	1 "	Streptococcus mastit. sporad.	5 "
	<hr/> 21mal	Bacillus Guillebeau a	3 "
		Chlorobacterium lactis	1 "
			<hr/> 19mal

Im pathologischen Eutersekret von Kühen hat Dèle (5) Streptokokken nachgewiesen.

Jensen (24) möchte in seinem Sammelreferat über die Mastitiden der Haustiere (1896) sowohl die Kittschen als auch die von Bang und Lucet beschriebenen Stäbchen mitsamt den Bacillen Guillebeau identifiziert wissen und vereinigt sie alle auf Grund deren beschriebenen morphologischen, biologischen und kulturellen Eigenschaften mit der Gruppe des Bacillus coli commune. Die von ihm aus krankem Milchdrüsensekret herangezüchteten Coli-Stämme führt er als Ursache der Euterentzündung an.

Ueber die Streptokokken der Milch machte Zschokke (49) weitgehende Untersuchungen. Er unterscheidet einen kurz- und einen langgliedrigen *Streptococcus*; der erstere erzeugt eine heilbare, der letztere eine unheilbare Form des gelben Galtes. Von 297 galtigen Milchproben zeigten 71 = 23 Proz. den langen, 226 = 77 Proz. den kurzen *Streptococcus*. Er nimmt ferner an, daß die Zahl der für das Euter pathogenen Pilze eine viel größere sei als Guillebeau gefunden hat. Soviel aus dieser Mitteilung ersichtlich ist, hat der Autor keine Kulturversuche gemacht.

Gröning (14) teilt die Galtstreptokokken, die Streptokokken des Rinderdarmes und des Stallbodens nach ihrem morphologischen Wachstumsverhältnis in einen *Streptococcus longus* und *brevis*, die jedoch kulturell kein durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal zeigen. Ebenso wenig unterscheiden sich der *Streptococcus mastitidis sporadicæ* und *contagiosæ* mikroskopisch und kulturell voneinander. Während ein Drittel der Reinkulturen der Galtstreptokokken für Mäuse pathogen war, zeigte von 15 Streptokokkenstämmen aus dem Rinderdarm und dem Stallboden nur einer diese Eigenschaft. In der geringen Pathogenität der letzteren Streptokokken glaubt der Autor die Ursache gefunden zu haben, daß trotz der enormen Verbreitung dieser Parasiten im Stalle Eutererkrankungen relativ selten vorkommen. Er schließt sich der hämatogenen und galaktogenen Infektionstheorie an, ohne diesem oder jenem Infektionsmodus den Vorrang zu geben.

Nach den sorgfältigen Untersuchungen von Streit (47) gehören die häufigsten Bacillen der parenchymatösen Euterentzündungen der Kühe in die große Gruppe der Coli-Bakterien. Die größte Zahl besteht aus typischen Coli-Stämmen, doch gibt es verschiedene Varietäten, welche Zwischenformen von diesem zu der Gruppe des *Bacillus aërogenes* darstellen. Nach Streit muß der *Bacillus Guillebeau* heute als reiner Coli-Stamm aufgefaßt werden.

Dieckerhoff (6), Härtle (19), Hock (23) und andere berichten über infektiöse Euterentzündungen der Kühe, nehmen aber Umgang von Angaben über Bakterien.

Untersuchungsmethode.

Meine Untersuchungen erstrecken sich auf 46 Sekretproben, die zum größten Teil von Kühen stammen. Von Ziegen konnte ich nur 1 Fall aufbringen.

Die Milchproben kommen teils von der hiesigen ambulatorischen Klinik, teils aus Eutern, die zur Sektion gebracht wurden, teils aus der Praxis von in der Nähe der Stadt wohnenden Tierärzten. Herrn Prof. Dr. E. Hess und den mir befreundeten Kollegen spreche ich hiermit für ihre liebenswürdige Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aus.

Die Entnahme des Sekrets geschah unter Beobachtung größter Sorgfalt und Reinlichkeit. Zwar wurden die Zitzen weder feucht noch trocken gereinigt, denn durch diese Manipulationen wäre doch nur die bakterienreiche Stallluft in Bewegung gesetzt und das Einfliegen von Mikroorganismen in die Probierröhrchen erleichtert worden. Ein trocken sterilisiertes Probierröhrchen wurde möglichst horizontal in die Nähe der Zitzen gehalten, der Wattepfropf mit der rechten Hand rasch ausgezogen und in der Regel der zweite Sekretstrahl eingemolken. Wenn irgendwie möglich, wurde das Sekret im Freien und meistens vor der Untersuchung des Euters entnommen.

Ins Arbeitszimmer zurückgekehrt, wurde sofort zur Herstellung von

Reinkulturen mit dem ausgeglühten Platindraht eine Oese voll Sekret in Gelatine übertragen, die bei 30° C flüssig gemacht worden war. Diese verdünnte ich durch Ueberimpfung mehrerer Oesen auf 3 Gelatine-röhrchen und goß sie in Petrische Schalen zu Platten aus. Dieselben blieben je nach Bedürfnis 2 bis mehrere Tage bei Zimmertemperatur stehen, bis Kolonien gewachsen waren. Hierauf wurden die einzelnen Kolonien isoliert und in Bouillon übertragen, von wo aus die verschiedenen Nährböden besät wurden.

Jedesmal wurden vom Sekret mikroskopische Strichpräparate mit Thionin und nach Gram gefärbt, um die Bakterienart oder eventuelle Mischinfektionen mikroskopisch festzustellen; oft war es aber unmöglich, in diesen Präparaten Bakterien zu finden, weil sie sich in zu geringer Anzahl darin befanden.

Von den untersuchten Sekretproben stammten

- 11 aus Eutern mit Mast. parenchymat. leichteren Grades,
- 16 aus Eutern mit Mast. parenchymat. schwereren Grades,
- 4 aus Eutern mit Euterkatarrh,
- 4 aus Eutern mit Fremdkörpergalaktophoritis,
- 11 aus Eutern mit Galt.

Zusammen sind 46 Fälle.

Die größte Zahl der Fälle trat bei milchenden Kühen auf, die kürzere oder längere Zeit nach dem Kalben sich einstellten, doch hatte ich auch Gelegenheit, eine ansehnliche Zahl bei trockenstehenden Kühen zu beobachten. Die letzteren verliefen durchweg milder.

Was das makroskopische Aussehen der pathologischen Sekrete anbelangt, so sind hier nach der Schwere des Falles gewaltige Unterschiede zu verzeichnen. In den leichten Fällen der parenchymatösen Mastitis war das Sekret immer noch grauweißlich bis gelb und enthielt viel feinere und gröbere weiße oder grauweiße Flocken. Je schwerer der Fall, um so größer war auch die Veränderung des Sekrets; dasselbe wurde mehr molkeähnlich und die Menge der Flocken verminderte sich. Bei den schwersten Entzündungen bildete es ein leicht trübes bis klares, gelblich-grünes Serum mit äußerst wenig oder gar keinen Flocken.

Weniger mannigfaltig waren die Veränderungen bei galtigem Sekret, obschon es von einer grau-trüben Molke bis zu einem erbsmusähnlichen Brei variierte. Am wenigsten verändert war das Sekret der an Euterkatarrh leidenden Kühe; hier war es stets weiß, etwas grau, wässrig mit vielen feinen Flöckchen, oder es schien makroskopisch normal und nur der salzige Geschmack verriet seine Abnormität.

Bei der Prüfung der Reaktion des Sekrets stellte es sich heraus, daß sämtliche Proben von parenchymatösen Mastitiden alkalisch, diejenigen von Galt und Euterkatarrh entweder amphoter oder sauer reagierten. Die starke Alkaleszenz des Sekrets bei parenchymatösen Mastitiden muß durch die rasche Abnahme des Zuckers und das Vorherrschen der Blutsalze an Stelle der amphoteren Phosphate erklärt werden, indem den aus Zucker säurebildenden Bakterien der Stoff zur Säurebildung fehlt; daher bleiben auch die nicht zuckerhaltigen Nährböden stets amphoter oder alkalisch.

Die von mir erhobenen Befunde lassen sich meistens ungezwungen in die von H. Guillebeau aufgestellten Bakterienarten einreihen, so daß ich die oben mitgeteilte Klassifizierung der Euterbakterien beibehalten konnte.

Weil eine wissenschaftliche allgemein gebräuchliche Benennung der Milchdrüsenabschnitte der Kuh in der Literatur nicht zu finden ist, so sollen die diesbezüglichen in dieser Arbeit zu verwendenden Bezeichnungen vorausgeschickt und kurz erläutert werden. Das Euter der Kuh wird durch ein bindegewebiges Septum in eine linke und rechte Hälfte geteilt. Nun hat Prof. Rubeli (44) durch Injektionen mit Farbstoffen bestimmt nachgewiesen, daß jede dieser Hälften wieder in einen vorderen und hinteren physiologisch streng voneinander getrennten Abschnitt ohne äußere sichtbare Grenze geteilt wird. Dadurch ist es möglich, am Kuheuter 4 Drüsenabschnitte zu unterscheiden, von denen jeder ein Viertel der ganzen Milchdrüse umfaßt. Gestützt hierauf, habe ich in vorliegender Arbeit für die Drüsenabschnitte die Bezeichnung „Viertel“ gewählt und diese je nach ihrer Lage in ein rechtes vorderes, rechtes hinteres, linkes vorderes und linkes hinteres Viertel unterschieden.

Es folgen nun die Euterentzündungen, die ich bakteriologisch untersucht habe. Dieselben sind nach den Bakterienbefunden zusammengestellt.

A. Staphylococcus mastitidis.

Fall No. 1 Ziege.

Symptome: Die Ziege zeigt ein leicht getrübbes Allgemeinbefinden und verminderte Freßlust. Rechte Drüse etwas geschwollen, leicht vermehrt warm und schmerzhaft, in der unteren Hälfte ödematös. Sekret grauweiß mit weißen Flocken, auf $\frac{1}{3}$ der gewöhnlichen Menge, nämlich auf 300,0 ccm zurückgegangen. In den Strichpräparaten des Sekrets befinden sich nach Gram färbbare Kokken.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex der rechten Drüse mit sekundärem Magendarmkatarrh.

Ausgang: Abheilung nach 3 Tagen.

Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, Bodensatz, Häutchenbildung.

Mikroskopisch: Kokken von 1μ Größe nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Gutes Wachstum mit trichterförmiger Verflüssigung, später weißer Bodensatz.

Kartoffeln: Dicker, schmutzig grauweißer Ueberzug.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, sauer, Kokken und kurze Ketten von 4–6 Gliedern enthaltend.

Bakteriologische Diagnose: Staphylococcus mastitidis.

Fall No. 2 Kuh.

Symptome: Allgemeinbefinden normal, linkes hinteres Viertel leicht geschwollen, vermehrt warm, empfindlich; Sekret grauweiß mit Flocken. Im Strichpräparat des Sekretes sind Kokken vorhanden.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Abheilung nach 48 Stunden.

Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse Trübung, starker schleimiger Bodensatz, Häutchenbildung.

Mikroskopisch: Kokken von 1μ Größe, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Trichterförmige Verflüssigung der Gelatine, weißer Niederschlag.

Kartoffeln: Dicker weißer Ueberzug.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, Ausscheidung grauer trüber Molke, sauer, enthält Kokken und 3–5-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Staphylococcus mastitidis.

Fall No. 3 Kuh.

Sektionsbefund: Euter im Gewicht von 8 kg Lymphdrüsen etwas groß; Konsistenz des Euters überall elastisch, auf der Schnittfläche und in den Milchgängen ziemlich viel dicker Eiter; das Sekret hat die Beschaffenheit einer trüben Molke.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Chronisch eiterige Galactophoritis (sporadischer Galt).

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Leichte Trübung, flockiger, orangefarbener Niederschlag.

Mikroskopisch: Nach Gram färbbare Kokken von fast 1 μ Durchmesser, in Haufen beisammen.

Gelatinestich: Trichterförmige Verflüssigung der Gelatine, orangefarbener Niederschlag.

Kartoffeln: Dicker, gelblich-brauner Ueberzug mittlerer Dicke.

Milch: Nach 36 Stunden fest geronnen, Ausscheidung klarer Molke, stark sauer, Kokken und 3—5-gliedrige Ketten enthaltend.

Bakteriologische Diagnose: *Staphylococcus mastitidis*.

Fall No. 4 Kuh.

Symptome: Linkes hinteres Viertel vor 10 Tagen mit geringgradigen Entzündungserscheinungen erkrankt; diese verschwanden jedoch rasch. Viertel seither an Umfang progressiv abgenommen, heute zwei Fäuste groß, weich, elastisch, ohne Entzündung. Milchmenge am kranken Viertel auf 20—30 cem zurückgegangen; die Milchmenge der anderen Viertel beträgt zusammen 4 $\frac{1}{2}$ l pro Melkzeit; die Milch ist normal. Das Sekret des kranken Viertels ist weiß und enthält gelbe Flocken und Klümpchen; darin konnten mikroskopisch keine Bakterien gefunden werden.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Abheilung in 4 Wochen, indem die Sekretion in geringerem Grade wiederkehrt.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, graulicher Bodensatz und Häutchenbildung.

Mikroskopisch: 1 μ große Kokken, die nach Gram färbbar sind.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, zuerst ein flacher Nagel, später trichterförmige Verflüssigung, grauweißer, schleimiger Bodensatz:

Kartoffeln: Grauweißer Ueberzug von mittlerer Dicke.

Milch: Nach 4 Tagen fest geronnen, sauer, Ausscheidung von anfangs trüber, später klarer Molke.

Bakteriologische Diagnose: *Staphylococcus mastitidis*.

Fall No. 5 Kuh.]

Symptome: Die Kuh ist seit 3 Wochen trocken gestanden. Plötzlich wird das linke hintere Viertel leicht geschwollen, vermehrt warm und schmerzhaft. Das Sekret ist ein gelbliches Serum mit Flocken und reagiert neutral. In den Strichpräparaten kommen Kokken von 1 μ Größe vor.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Nach 3 Tagen ist der Zustand wieder normal.

Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse Trübung, gelblicher Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in Haufen, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Gutes Wachstum mit Nagel, am 3. Tag beginnt die trichterförmige Verflüssigung, orangefarbener Niederschlag.

Kartoffeln: Ein feuchter, graugelber, dicker Ueberzug.

Milch: Gerinnung nach 5 Tagen, sauer, Ausscheidung leicht trüber Molke, im Niederschlag Kokken und 4—6-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Staphylococcus mastitidis.

. Fall No. 6 Kuh.

Symptome: In einem Stall, wo die Kühe dicht stehen, zeigte eines Morgens eine Kuh am rechten hinteren Viertel eine bedeutende Menge Blut in der Milch. Beim Besuch, der am gleichen Tage erfolgte, waren folgende Erscheinungen zu konstatieren. Geringe Vergrößerung des Viertels, vermehrte Wärme und starke Schmerzhaftigkeit, besonders in der Umgebung der Cisterne. Die Zitze ist derb, vergrößert, gerötet und äußerst empfindlich. Das Sekret ist mit flüssigem und geronnenem Blut vermischt. Nach 2 Tagen ist die Schwellung stärker, das Sekret stark vermindert und am kranken Viertel auf ein Minimum reduziert. Mit Mühe lassen sich einige dicke, schleimige graugelbe Klumpen herauspressen. Das Allgemeinbefinden des Tieres ist etwas getrübt, Freßlust und Rumination vermindert. In den Strichpräparaten des Sekrets findet man nach Gram färbbare Kokken.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa mittleren Grades des rechten hinteren Viertels infolge Klauentritt auf die Cisterne. Thelitis und Schleimhautriß in der Cisterne.

Ausgang: Der Fall befindet sich zur Zeit noch in Behandlung; es ist bedeutende Besserung eingetreten. Das Viertel ist frei von Entzündung; die Umgebung der Cisterne noch schmerzhaft und derb, der Strichkanal durchgängig, Milch an diesem Viertel bereits normal in der Menge von $\frac{1}{2}$ l.

In den Platten wächst 1 Art verflüssigender Kokken.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, dicker grauer Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken von 1μ Größe, nach Gram färbbar, in Haufen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, vom 2. Tag an trichterförmige Verflüssigung.

Kartoffeln: Dicker schmutzig-grauer Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, sauer, enthält Kokken und 4—10-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Staphylococcus mastitidis.

Allgemeines über Staphylokokken.

Frosch und Kollé beschreiben in „Flügel Mikroorganismen“ diese Mikrokokken als ca. 1μ große, runde, nach Gram färbbare Zellen, die sich gewöhnlich in größeren unregelmäßigen Haufen gruppieren, oft aber als Diplokokken, oder zu vieren, oder in 3—4-gliedrigen Ketten auftreten. Nährbouillon wird gleichmäßig getrübt, Gelatine langsam verflüssigt; auf Kartoffeln zeigen sie gutes Wachstum und Milch bringen sie durch Milchsäurebildung in 1—8 Tagen zur Gerinnung. Je nach der Farbe des Bodensatzes in der verflüssigten Masse alter Gelatinekulturen wird ein gelber, weißer und zitronengelber Staphylococcus unterschieden.

Die Wirkung des Staphylococcus ist je nach der Art der Applikation und der Virulenz der benutzten Kulturen sehr verschieden. Für Tiere ist er weniger pathogen als für Menschen; immerhin können bei Tieren bei verschiedenen Injektionsformen schwere und selbst tödliche pathologische Prozesse erzeugt werden.

Der von Guillebeau und mir gefundene Staphylococcus zeigt mit demjenigen aus suppurativen Leiden des Menschen isolierten morphologisch und kulturell große Übereinstimmung. Eine Abweichung bezieht sich nur auf die Virulenz. Durch zahlreiche subkutane Injektionen auf Hunde, Meerschweinchen und Mäuse hat Guillebeau den Mangel an pyogenen Eigenschaften festgestellt und ebenfalls durch Experimente seine für das Euter spezifische Virulenz und entzündungserregenden Eigenschaften nachgewiesen. Ein negatives Resultat hat auch No-card (41) mit seinem Micrococcus erhalten, als er ihn verschiedenen Tieren unter die Haut spritzte. In Anbetracht dessen, daß er den

Staphylokokken des Menschen sehr ähnlich ist, daß ihm aber die pyogene Wirkung jener abgeht, und daß er unter den Erregern der Euterentzündungen eine bedeutende Rolle spielt, ist die von Guillebeau vorgeschlagene Bezeichnung „Staphylococcus mastitidis“ wohl berechtigt. Den Mikroorganismus zu den pyogenen Staphylokokken des Menschen zu rechnen, wie Jensen es vorschlägt, ist kaum zu billigen, weil eine pyogene Wirkung des Coccus auch im Euter nach der parenchymatösen Mastitis stets ausbleibt.

B. Galaktokokken.

Fall No. 1 Kuh.

Symptome: Das rechte vordere Viertel zeigt die Erscheinungen einer milden Mastitis. Leichte Schwellung, vermehrte Wärme und Empfindlichkeit, etwas Derbheit. Das Sekret ist auf $\frac{1}{2}$ l zurückgegangen; es ist weißgelblich, mit weißen Flocken. Im Strichpräparat konnten mikroskopisch keine Bakterien nachgewiesen werden.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex des rechten vorderen Viertels.

Ausgang: Heilung in 3 Tagen. In den Gelatineplatten ist nur 1 Art von Kolonien zugegen.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Leichte Trübung, wenig schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken von kaum 1μ Durchmesser, nach Gram färbbar, in Haufen und in kurzen Ketten.

Gelatinestich: Schwaches Wachstum, feinkörniges Band, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Trockener, weißer, dünner Ueberzug.

Milch: Nach 36 Stunden fest geronnen, stark sauer, enthält Kokken und 4—7-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Galactococcus fulvus.

Fall No. 2 Kuh

verhält sich ganz gleich wie Fall No. 1. Ergriffen ist das linke vordere Viertel.

Fall No. 3 Kuh,

wie Fall No. 1.

Fall No. 4 Kuh.

Symptome: Das rechte hintere Viertel erkrankte häufig an milder Mastitis, die jeweilen in 1—2 Tagen abheilte. Die Erscheinungen sind dieselben wie bei Fall 1. Im grau-weißlichen Sekret konnten mikroskopisch Kokken nachgewiesen werden.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex des rechten hinteren Viertels.

Ausgang: Heilung in 4 Tagen.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken von kaum 1μ Größe, nach Gram färbbar, in Haufen, einzeln und in Ketten.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum, flacher Nagel, erst nach 8 Wochen tritt langsam Verflüssigung ein.

Kartoffeln: Entweder als feiner, weißer, trockener oder als mäßig dicker grauweißer Ueberzug mit orangegelbem Anflug oder der ganze Belag ist orange gefärbt.

Milch: Ist nach 3 Tagen fest geronnen, stark sauer und enthält Kokken und bis 10-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Galactococcus versicolor.

Fall No. 5 Kuh.

Symptome: Die Kuh zeigt seit 8 Tagen in der Milch aller Viertel weiße Flocken. Die Milch ist weiß, nicht lange haltbar, gerinnt leicht beim Kochen. Gewebssymptome

sind keine vorhanden; im rechten vorderen Viertel befindet sich in der Nähe der Cisterne eine haselnußgroße Cyste. In den Strichpräparaten des Sekretbodensatzes findet man viele Kokken und einige 4—5-gliedrige Ketten.

Klinische Diagnose: Galactophoritis (Euterkatarrh).

Ausgang: Heilung in 14 Tagen. In den Platten wachsen eine Art Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung mit sandig-schleimigem Bodensatz.

Mikroskopisch: $\frac{3}{4}$ μ große, nach Gram färbbare Kokken, oft in 3—6-gliedrigen Ketten.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, kein Nagel oder dieser nur sehr dünn, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Auf 2 Kartoffeln ein weißer dünner Belag von Kokken.

Milch: Nach 2 Tagen geronnen, sehr sauer, Niederschlag homogen.

Bakteriologische Diagnose: Galactococcus fulvus.

Fall No. 6 Kuh.

Symptome: Ein 8 Tage vor dem Kalben stehendes Rind zeigte eines Morgens das rechte vordere Viertel stark geschwollen; die ödematöse, schmerzhaft Schwellung reichte fast bis zum Nabel. Das Viertel ist schmerzhaft, vermehrt warm. Das Sekret bildet ein wässrig-graues trübes Serum von alkalischer Reaktion, während dasjenige der übrigen Viertel weiß, colostrum-ähnlich ist. Mikroskopisch sind im Sekret Kokken nachzuweisen.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa mit Hautödem.

Ausgang: Nach dem Kalben tritt vollständige Resolution ein und das Viertel liefert gleich viel Milch wie die anderen.

In den Platten wachsen nur eine Art von ganzrandigen, anfangs weißen Kolonien, die später ein gelbes Zentrum erhalten.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung; weißer schleimig-sandiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kaum 1 μ groß, nach Gram färbbare Kokken einzeln und in größeren Haufen.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum im Stich, kein Nagel, im Stich runde weiße Kolonien, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Hellbrauner bis gelblicher, schwach feuchter, mäßig dicker Ueberzug.

Milch: Nach 3 Tagen sauer, geronnen, homogener Niederschlag; nach 24 Stunden sind in der Milch Kokken und 3—10-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Galactococcus fulvus.

Fall No. 7 Kuh.

Symptome: Eine Kuh der Braunviehrasse, die seit 3 Wochen trocken stand, zeigte eines Tages geringgradige Entzündungserscheinungen beider vorderen Viertel. Das Sekret des linken Viertels war ein graurotes Serum mit Flocken, während das rechte Viertel eine gelbweiße, dicke, klümperige Masse entleerte, die beim Sedimentieren ein gelb-rötliches Serum ausschied. Mikroskopisch waren keine Bakterien nachzuweisen.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa simplex beider vorderen Viertel.

Ausgang: Nach Einreibung einer Eutersalbe verschwanden die Entzündungssymptome nach 2 Tagen; nach dem Kalben lieferte die Kuh normale Milch.

In den Platten wachsen nach 3 Tagen kleine prominente Kolonien in geringer Anzahl.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, sandiger, leicht schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Nach Gram färbbare Kokken von 1 μ Größe

Gelatinestich: Nach 3 Tagen gutes Wachstum, flacher gelblicher Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Nach 6 Tagen ein gelbbrauner, trockener, mäßig dicker Ueberzug.

Milch: Gerinnt nach 3 Tagen, wird stark sauer, über dem homogenen Niederschlag ist eine klare Molke.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Fall No. 8 Kuh.

Symptome: Die Kuh zeigt seit einiger Zeit weiße Flocken in der Milch; besonders stark tritt diese Abnormität am rechten hinteren Viertel auf. Die Milch ist weiß, nicht lange haltbar, gerinnt leicht beim Kochen. Gewebssymptome sind keine vorhanden, das rechte hintere Viertel ist etwas kleiner als die anderen und liefert am wenigsten Milch. In den Strichpräparaten des amphoteren Sekretes befinden sich nach Gram färbbare Kokken.

Klinische Diagnose: Milde Form der akuten *Galactophoritis* (Euterkatarrh).

Ausgang: Heilung in 10 Tagen. In den Platten wächst eine Art von Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, etwas schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: 0,75 μ große, nach Gram färbbare Kokken.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dünner, weißer bis schwach brauner Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden ist vollständige Gerinnung eingetreten, stark saure Molke.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Fall No. 9. Kuh.

Symptome: Aus der Praxis eines Tierarztes wird Milch zur mikroskopischen Untersuchung geschickt mit dem Bericht, daß trotz Behandlung des Tieres sich die Qualität der Milch nicht bessere, obschon das Euter keine abnormen Erscheinungen zeige. Die Milch ist grauweiß, enthält weiße Flocken und viele Kokken und Diplokokken.

Klinische Diagnose: Milde Form von *Galactophoritis acuta* (Euterkatarrh).

Ausgang: Unbekannt.

In den Gelatineplatten wachsen runde, granuliert, weiße Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse schwache Trübung, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken von 0,8 μ Größe, in Haufen und einzeln, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum im Stich, keine Verflüssigung, kein Nagel.

Kartoffeln: Weißer, dürtiger, körniger Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, sauer, enthält kurze Ketten bis zu 10 Gliedern und viele Kokken.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Fall No. 10. Kuh.

Symptome: In der Milch sind seit 3 Wochen kleinere und größere Flocken; sie ist etwas bläulich-wässrig, schwach salzig. Das Euter ist klein, etwas schlaff, ohne Entzündungssymptome; unter der Haut sind an mehreren Orten harte, unschmerzhaftige Knoten fühlbar. Mikroskopisch findet man Kokken und Diplokokken im Sekret.

Klinische Diagnose: Milde Form der *Galactophoritis acuta* (Euterkatarrh).

Ausgang: Nach tierärztlicher Behandlung Abheilung in 3 Wochen.

In den Gelatineplatten wachsen runde, weiße Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Nach Gram färbbare Kokken in Haufen und einzeln, $0,75 \mu$ groß.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, flacher kleiner Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Schwacher, weißer, körniger Ueberzug.

Milch: Nach 30 Stunden fest geronnen, sauer, enthält Kokken und kurze Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Allgemeines über Galaktokokken.

Drei neue Species von Erregern der Euterentzündungen wurden 1890 von Guillebeau (15) unter dem allgemeinen Namen „Galaktokokken“ aufgestellt. Der Autor beschreibt sie als runde, unbewegliche, ungefähr 1μ große, nach Gram färbbare Kokken, die *aërob* und *anaërob* auf den gewöhnlichen Nährmedien gut gedeihen, Gelatine nicht verflüssigen und Milch durch Säuerung zur Gerinnung bringen. Sehr mannigfaltig ist das Wachstum auf Kartoffeln. Auf Grund ihrer verschiedenen Wachstumsmerkmale auf diesem Substrate glaubt Guillebeau 3 verschiedene Arten zu erkennen und unterscheidet sie in einen *Galactococcus versicolor*

„ *fulvus* und
„ *albus*.

Der *Galactococcus versicolor* bildet auf Kartoffeln einen mäßig dicken, schmutzig weißen oder grauen oder zitronengelben Ueberzug, während *Galactococcus fulvus* einen ockergelben oder weißen Belag verschiedener Dicke bildet. *Galactococcus albus* erzeugt einen dicken schmutzig-weißen Ueberzug. Der Autor hat in 83 Befunden 19mal Galaktokokken in Reinkultur gezüchtet.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Sarcosporidien und deren Enzyme.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der tierärztlichen Hochschule Hannover.]

Von Prof. Dr. Rievel und Dr. Behrens.

Mit 4 Figuren.

Im März d. J. wurde im pathologischen Institute ein Lama (*Auchenia*) obduziert, bei dem sich als zufälliger Befund unzählige Sarkosporidien-säckchen in der gesamten Körpermuskulatur vorfanden. Besonders zahlreich fanden sie sich in den Muskeln des Halses, Nackens, der Brust und der Schulterblätter, während sie in der Rücken-, Lenden-, Kruppen- und Hinterschenkelmuskulatur zwar ebenfalls vorhanden, aber doch spärlicher waren. Sie erschienen als ovale bis rundliche Gebilde von der Form und Größe eines Weizenkornes von durchschnittlich 5–8 mm Länge und 2–5 mm Breite, einzelne waren auch etwas größer. Sie waren undurchsichtig, von grauweißer bis gelblichweißer Farbe, besaßen eine ziemlich derbe Wand und einen trüben, grauweißen, zähflüssigen Inhalt. Sie ließen sich vollständig unversehrt enukleieren. Da sich in der Literatur keine Angaben über das Vorkommen von Sarkosporidien beim Lama vorfinden, nahmen wir Veranlassung, dieselben näher zu untersuchen.

1. Morphologie.

Die Untersuchung erfolgte in frischem Zustande an Zupfpräparaten und nach Formalinhärtung und Paraffineinbettung an Schnitten von $5\ \mu$ Dicke. Die Schnitte wurden auf dem Objektträger gefärbt mit Hämatoxylin, Hämatoxylin-Eosin, nach van Gieson und nach Unna-Taenzer. Sämtliche Sarkosporidien waren von einer Membran umgeben, von deren innerster Schicht Fortsätze nach dem Innenraum abgingen, welche miteinander anastomosierten und so ein Alveolarsystem bildeten, welches allseitig geschlossene, verschieden große Abteilungen enthielt. Diese Abteilungen waren nun entweder mit zelligen Gebilden oder halbmondförmigen Sporozoiden oder mit feinkörnigen Detritusmassen gefüllt. Die Cuticula besteht aus zwei Schichten, einer äußeren dickeren und einer inneren, sehr dünner, fast strukturlosen. Die äußere Schicht zeigte ein gleichmäßig dichtes Gefüge und wies an ihrer Außenseite an einzelnen Stellen zahlreiche kleine knopfförmige Vorsprünge auf. Die Dicke betrug an diesen mit Vorsprüngen besetzten Stellen bis $8\ \mu$, an den zwischen diesen gelegenen Abschnitten nur $3\text{--}5\ \mu$. Diese Vorsprünge fand ich an allen untersuchten Sarkosporidiensäckchen sowohl größeren wie kleineren; sie waren sowohl bei der Färbung mit Hämatoxylin wie auch nach van Gieson und Unna-Taenzer gleich gut sichtbar und zeigten denselben Farbenton wie die übrige äußere Schicht. Einen Borstenbesatz, wie ihn Raney, Rivolta, Virchow, Leuckart und Bertram bei den Sarkosporidien des Schweines und Schafes beschrieben haben, konnte ich nicht auffinden, trotzdem ich hierauf gerade meine besondere Aufmerksamkeit richtete, nachdem Laveran und Mesnil (1) bei ihren Untersuchungen der beim Schaf und Schwein vorkommenden Sarcosporidien gefunden hatten, daß die ganze Oberfläche der Membran von zierlichen Fädchen bedeckt sein sollte, die einen transversalen Verlauf hatten, mit Ausnahme der beiden Pole, wo sie schief und schließlich longitudinal verliefen; von der Oberfläche aus betrachtet, sollen diese Fädchen nach Ansicht der französischen Forscher der dadurch dicker erscheinenden Membran das gestreifte Aussehen verleihen und zur Befestigung der Sarkosporidien mit den benachbarten Muskelfibrillen dienen. Wohl aber konnte ich verschiedentlich beobachten, wie die äußere Schicht von zahlreichen kleinen Rissen durchsetzt war, welche zumeist in etwas schräger Richtung von außen her die äußere Schicht fast in ihrer ganzen Stärke durchdrangen (Fig. 2). Die innere Schicht der Cuticula stellt eine feine, homogene Membran dar, welche durchschnittlich nur $1,5\text{--}2\ \mu$ dick ist, unter Umständen aber so fein sein kann, daß sie nur eben sichtbar ist. Durch die spezifischen Färbemethoden färbten sich diese beiden Schichten ganz different, bei der Giesonschen Färbung nahm die äußere Schicht eine bläulich-rote Farbe an, während die innere einen blaßroten Farbenton zeigte; bei der Unna-Taenzer'schen war die Tönung eine blaßbraurote bzw. eine um viele Nuancen hellere. Wodurch diese differente Färbung bedingt wurde, vermochte ich durch meine Untersuchung nicht zu ermitteln. Von dieser Innenschicht gehen Fortsätze aus in das Innere der Säckchen hinein, welche durch zahlreiche Anastomosen ein Maschenwerk bilden, welches ein Kammersystem abgrenzt. Die Größe dieser so gebildeten Kammern ist wechselnd, ebenso ihre Form, die bald ein Oval, bald ein Vieleck darstellt. Die unmittelbar an die Cuticula angrenzenden Kammern sind die kleinsten, es folgt dann eine Zone sehr

großer Kammern, während die mehr zentralwärts gelegenen wiederum etwas kleiner sind. Auffallend ist die Tatsache, daß die Fortsätze bei den Sarkosporidien des Lama eine so überaus verschiedene Stärke besitzen. Die feinsten Fortsätze haben eine Breite von $2\ \mu$, sie steigern sich bei einigen auf $5\ \mu$, um in der Mehrzahl der Septen $13-17-20\ \mu$ zu erreichen. An vielen Stellen verbreitern sich die Septen inselförmig, so daß sie eine Länge von $112\ \mu$ und eine Breite von $50-60\ \mu$ haben (Fig. 3). Sie zeigen dabei eine vollständig gleichmäßig homogene Beschaffenheit und gleiche Färbung. Die breiteren und breitesten Septen finden sich in den centralen Teilen der Säckchen. Von einer derartig



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 4.

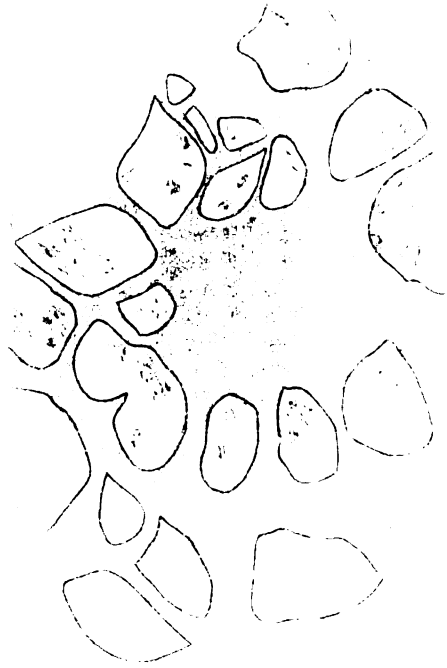


Fig. 3.

wechselnden Dicke der Septen finde ich in der mir zugänglichen Literatur keinerlei Angaben, weder Bertram (2) noch Pfeiffer (3), Wasielewski (4), Labbée (5) und Laveran-Mesnil erwähnen dieselbe. Bemerken will ich noch, daß diese verschiedene Form der Septen sich bei den verschiedensten Konservierungsmethoden, wie Formalin, Alkohol, Chrom-Osmium-Essigsäure in gleicher Weise vorfand, so daß dieselben nicht etwa als Kunstprodukte anzusprechen sind. Die Kammern zeigen einen verschiedenartigen Inhalt. Die kleinen, unmittelbar an die innere Schicht der Cuticula angrenzenden Kammern tragen unregelmäßige, gewöhnlich rundliche Zellen von $6-8\ \mu$ Größe, die den Raum mehr oder weniger vollständig ausfüllen. Die Konturen der Zellen sind zumeist scharf und deutlich. Das Protoplasma ist fast homogen und zeigt nur

bisweilen einzelne feine Körnchen. Der Kern ist verhältnismäßig groß, $2\frac{1}{2}$ — $3\ \mu$ (Fig. 4) und färbt sich intensiv, während sich das Protoplasma nur wenig färbt. Diese protoplasmareichen Zellen finden sich nun nicht allein an den Polen der Sarkosporidiensäckchen, sondern an der ganzen Oberfläche derselben. Auf diese Proliferationszone folgt eine bedeutend dickere, welche die reifen Sporen in großen Kammern enthält. Diese sichelförmigen Körperchen finden sich in der größten Anzahl — die Kammern vollständig ausfüllend — in den der Peripherie anliegenden Maschenräumen, während ihre Menge in den zentralwärts gelegenen Kammern mehr und mehr abnimmt. Ihre Form ist nieren-, bohnen- oder sichelförmig; ihre Größe beträgt durchschnittlich 6 — $8\ \mu$ (seltener $5\ \mu$ oder $10\ \mu$), ihre Breite 2 — $3\ \mu$. Die Enden sind abgerundet. Sie bestehen aus fein granuliertem Protoplasma, welches einen Kern, gewöhnlich 2 Vakuolen und einige lichtbrechende, sich dunkler färbende Körperchen einschließt. Es war an diesen Sporen keine Polkapsel oder ein fadenförmiger Anhang aufzufinden, wie sie Laveran und F. Mesnil l. c. und van Eecke (6) beim Schaf, Rind und Schwein gesehen haben. Meine Befunde stimmen hierin mit denen Kochs (7) überein, der bei den Sarkosporidien der Schafe auch keine fadenförmigen Anhänge gefunden hat.

Die zentral gelegenen Kammern enthielten feinkörnige Detritusmassen und in mehr oder weniger vorgeschrittenem Zerfall befindliche Sporen. Diese Zerfallsmassen füllen die Maschenräume nur zum kleinsten Teile aus.

Die bei *Auchenia* vorkommenden Sarkosporidien weisen eine Reihe von Abweichungen von den bei anderen Tierarten gefundenen auf; ich will es dahingestellt sein lassen, ob es sich um eine besondere Art oder nur um Anpassungserscheinungen handelt.

2. Physiologie.

Zum näheren Studium der Entwicklungsgeschichte der Sarkosporidien zerschnitt ich ca. 10 Säckchen und verrieb dieselben mit physiologischer Kochsalzlösung in einem Porzellanmörser. Von der sich allmählich absetzenden Flüssigkeit injizierte ich einem $2,25\ \text{kg}$ schweren weiblichen Kaninchen — welche Tierart für Sporozoen besonders empfänglich sein muß in Anbetracht der bei ihnen so überaus häufigen Coccidiosis — $2\ \text{ccm}$ subkutan an der linken Brustwandung. Nach Ablauf von 7 Stunden war das Kaninchen verendet. Die sofort vorgenommene Obduktion hatte folgendes Ergebnis: An der Impfstelle zeigte sich eine ganz geringgradige Rötung. Bauchhöhle ohne abnormen Inhalt. Darm ohne Veränderungen: Leber braunrot, in der Peripherie der Acini etwas weißlich. Milz von dunklerer Farbe, Schnittfläche blutreich. Nieren graurötlich; Rindenzeichnung deutlich. In der Brusthöhle kein abnormer Inhalt, Lungen gut retrahiert, puffig, rosarot. Herz mäßig mit geronnenem Blute gefüllt. Muskulatur ohne nachweisbare Veränderung.

Ein zweites Kaninchen (männlich, $2\frac{1}{2}\ \text{kg}$) hatte am gleichen Tage (14. März 1903) per os den mit physiologischer Kochsalzlösung verriebenen Inhalt einiger Sarkosporidiensäckchen erhalten und außerdem gleichzeitig eine subkutane Injektion von $1\ \text{ccm}$ Lösung. Nach Verlauf von 8 Stunden verendete dieses Tier gleichfalls, nachdem es vollständig apathisch in einer Ecke des Käfigs in hockender Stellung verharrt hatte und ab und zu scheinbar vor Schmerzen schrie. Tod trat in hockender

Stellung ein ohne nennenswerten Todeskampf. Die Sektion ergab den gleichen negativen Befund wie bei I; Milz war gleichfalls etwas dunkler, weicher und blutreicher.

Diese plötzlichen Todesfälle (7—8 Stunden nach der Impfung) kamen mir gänzlich unerwartet. Eine bei der Impfung etwa stattgehabte Infektion war kaum denkbar, zumal auch der Sektionsbefund ein fast völlig negativer war. Die bakteriologische Untersuchung war negativ; eine Impfung von 3 weiteren Kaninchen (V.T. 3, 4, 5) mit Blut bzw. Milz der Versuchstiere I und II hatte ebenfalls kein Resultat — sie blieben vollständig gesund. Es konnte demnach der Tod nur durch Giftstoffe herbeigeführt worden sein, welche durch die Injektion der verriebenen Sarkosporidien in den Kaninchenkörper übertragen waren. Hierbei waren zwei Möglichkeiten denkbar: 1) die einzelnen Sarkosporidien-säckchen enthielten in ihrem rahmartigen Inhalt die Giftstoffe oder 2) dieselben hafteten dem Fleische des Lama an, welches in kleinen Mengen bei dem Ausschälen der Säckchen an deren Wandung haften geblieben sein konnte. Um dieses festzustellen, schüttelte ich 15 g Lamafleisch mit etwas physiologischer Kochsalzlösung aus und injizierte hiervon subkutan einem Kaninchen (V.T. 6) $2\frac{1}{2}$ ccm und einem anderen (V.T. 7) 5 ccm. Beide Tiere blieben völlig gesund. Desgleichen impfte ich 2 weiße Mäuse (V.T. 8 und 9) mit je 1 ccm mit dem gleichen Resultat. Hiernach mußte ich annehmen, daß das Fleisch unschädlich sei, und die Giftstoffe sich lediglich in dem Inhalte der Sarkosporidien-säckchen vorfänden. Um vergleichende Untersuchungen über die Wirkung dieses Giftes bei verschiedenen Tieren machen zu können, impfte ich eine weiße Maus (V.T. 10) subkutan mit 0,5 ccm eines 24 Stunden alten Kochsalzauszuges. Nach 2 Tagen zeigten sich die Augenlider leicht verklebt, im Hinterteile war eine geringgradige Schwäche wahrzunehmen; am 3. Tage lag die Maus scheinbar tot im Käfig, auf den Tisch gesetzt, wurden nur einige matte Bewegungen noch ausgeführt, jedoch war die Maus nicht mehr im stande, sich frei zu bewegen, sie behielt vielmehr die Seitenlage bei. Die Umgebung des Afters war mit gelbem, wässrigen Kot besudelt. Erst am 4. Tage trat der Tod ein. Bei der Sektion waren die Därme mit gelbem, flüssigen Inhalt gefüllt. Milz gleichfalls etwas dunkler und geschwollen, Herzstillstand in Diastole. Ein mit 4 ccm desselben Auszuges geimpftes Meerschweinchen (V.T. 11) blieb gesund. Hiernach schienen die Kaninchen am empfänglichsten zu sein und wurden dieselben auch fernerhin ausschließlich zu Versuchen benutzt; denn der negative Ausfall der Impfung des Meerschweinchens beruhte nicht etwa auf einer eingetretenen Zersetzung des Giftes während seines 24-stündigen Aufbewahrens in physiologischer Kochsalzlösung, denn ein mit 4 ccm davon subkutan geimpftes Kaninchen (V.T. 12) verendete prompt nach 7 Stunden, nachdem es vorher Lähmungserscheinungen im Hinterteile gezeigt hatte. Tod war in hockender Stellung ohne Todeskampf eingetreten. Bei der Sektion zeigten die Organe keine erwähnenswerten Abweichungen, auch das Gehirn zeigte keine Veränderungen, in den Ventrikeln keine Flüssigkeit. Das übereinstimmende Verhalten der V.T. 1, 2 und 12 sowie der negative Sektionsbefund ließen darauf schließen, daß es sich um ein Nervengift handeln würde und das sich dasselbe event. in dem Zentralnervensystem lokalisiert hätte. Ich verrieb von dem Gehirn ein erbsengroßes Stück unter den nötigen Kautelen mit sterilisierter Bouillon und injizierte hiervon 5 ccm einem Kaninchen (V.T. 13) subkutan. Dasselbe ver-

endete nach 3 Tagen unter den gleichen Erscheinungen; auch hier ergab die Sektion einen negativen Befund, es fand sich nur geringgradige Flüssigkeitsansammlung in der Bauchhöhle mit kleinen Fibrinflocken und etwas sulzige Durchtränkung der Subkutis in der Umgebung der Impfstelle.

Die physiologische Wirkung des Giftes studierte ich an den V.T. 14 und 15 — 2 Kaninchen von 460 bzw. 560 g Gewicht — die je 5 ccm des Kochsalzauszuges subkutan erhielten. Unmittelbar nach der Impfung zeigen sich beide Tiere vollständig munter, fressen von vorgelegtem Heu und Rüben. Bewegung vollständig frei und lebhaft. Nach ca. 2½—3 Stunden werden die Tiere ruhiger, hocken an derselben Stelle und zeigen eine erschwerte und angestrengte Atmung. Nach 6 Stunden atmet V. T. 14 (460 g) 100mal in der Minute so angestrengt, daß eine Erschütterung des ganzen Körpers stattfindet. Haar ist gestäubt. Tier hockt in der gewöhnlichen Stellung zusammengekauert und stützt den Kopf auf den Boden. Augenlider halb geöffnet, Pupille normal weit. Empfindlichkeit soweit herabgesetzt, daß Kaninchen erst nach erfolgter Berührung der Cornea mit Nadel die Lider schließt. Sensibilität im Hinterteil hat erheblich abgenommen, Einstechen einer Nadel ruft nur leises Zucken des Hautmuskels hervor, jedoch keine Abwehrbewegungen, ja man kann die Nadel tief in die Muskulatur einstecken, ohne daß das Kaninchen zu fliehen versucht. Am Vorderkörper ist dasselbe empfindlicher, Nadelstiche rufen noch lebhaftere Bewegungen der Beine hervor; das Berühren der Nase mit der Nadel ist dem Tiere so unangenehm, daß dasselbe langsam einen Schritt zurückweicht, welche Bewegung nur sehr mühsam und beschwerlich ausgeführt wird. Puls unfühbar, Herz-tätigkeit so beschleunigt, daß die Kontraktionen nicht mehr fühlbar sind, sondern nur eine vibrierende Erschütterung der linken Brustwand wahrgenommen wird. Versuche, das Tier in Seitenlage zu bringen, rufen anfänglich Sträuben hervor, welches durch kurze schlagende Bewegungen mit den Hinterschenkeln markiert wird, sie können dabei aber nur einen Kreisbogen von höchstens 70° beschreiben. Alsbald bleibt das Kaninchen aber apathisch in Seitenlage liegen. Im After und an den Haaren seiner nächsten Umgebung einige normal geformte kleine Kotballen; der Grund der Haare schwach blutig verfärbt. Temperatur ist erheblich gesunken; Quecksilbersäule bleibt auf der untersten Stufe 35° C stehen. Durch die Einführung des Thermometers in den After etwas beunruhigt, versucht sich das Kaninchen zu erheben, dieses gelingt ihm aber nur insoweit, als es die beiden Vorderschenkel und den rechten Hinterschenkel in die normale Lage zu bringen vermag, während der linke Hinterschenkel seine ursprüngliche Lage — lang ausgestreckt auf der Tischplatte — beibehält, so daß er mit der Längsachse des Körpers einen rechten Winkel bildet. Unter Zunahme dieses tief soporösen Zustandes erfolgt der Tod ohne vorhergehenden Todeskampf, da die Tiere in hockender Stellung tot aufgefunden werden; sie machen den Eindruck, als wenn sie ruhig schliefen.

Das zweite Kaninchen zeigte dieselben Erscheinungen, nur trat hier der Tod etwas später ein, weil dieses ja eine geringere Dosis pro Kilogramm erhalten (560 g : 5 ccm). Bei der Sektion beider Tiere finden sich im Mastdarm trockene, feste Kotballen, kein dünnflüssiger Inhalt. Die übrigen Organe waren gesund; Herz welk, schlaff, wenig Blut enthaltend. Aus diesem Verhalten ergibt sich, daß wir es mit einem starken Nervengift zu tun haben, welches durch ascendierende Paralyse den Tod herbeiführt.

Für den weiteren Verlauf der Sache schien es wünschenswert, den Versuchen eine einigermaßen chemische Basis zu geben, da der physiologische Versuch allein wohl Aufschluß über die Wirksamkeit des giftigen Stoffes zu geben vermochte, keineswegs aber irgend welche Schlüsse bezüglich der chemischen Natur des oder der Gifte zuließ.

30,0 g der frischen Sarkosporidienschläuche wurden zunächst im rauhen Mörser zerrieben und mit 150 ccm sterilisierter 0,7-proz. Natriumchlorat-Lösung behandelt, nach und nach wurde von derselben Lösung so viel zugesetzt, bis das Filtrat 300 ccm betrug. Von diesem Filtrate töteten 4 ccm, subkutan injiziert, 1125,0 (V.T. 16) Kaninchen in 7 Stunden unter denselben Erscheinungen wie oben.

Um nun festzustellen, ob es sich hierbei um alkaloidartige Körper von relativ geringem Molekulargewicht handle, fällte ich (Behrens) den oben erwähnten und zu Impfzwecken benutzten Auszug mit 96-proz. Alkohol. Der sofort entstehende voluminöse, amorphe Niederschlag wurde abfiltriert, auf dem Filter mit wenig physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, um die Hauptmenge des Alkohols zu entfernen. Dann wurde er längere Zeit mit physiologischer Chlornatriumlösung geschüttelt und unter Hinzufügen von einem Stückchen Thymol, um Fäulnis zu verhüten, damit in Berührung gelassen. Nach 2-stündigem Stehen filtrierte ich ab und wusch den Rückstand mit wenig physiologischer Kochsalzlösung nach.

2 Kaninchen (V.T. 17 und 18) wurden mit je 5 ccm hiervon geimpft; beide blieben völlig munter. Der wirksame Bestandteil mußte sich mithin noch im Niederschlage befinden oder er war im Filtrate vorhanden, durch Alkohol also nicht fällbar, und endlich konnte er durch die Behandlung mit Alkohol zerstört sein. Den oben erwähnten Filterrückstand behandelte ich jetzt mit 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung, es schienen größere Mengen desselben gelöst zu werden, die Flüssigkeit wurde schwach gelblich, opalisierend. Nach längerem Stehen unter öfterem Umschütteln filtrierte ich ab.

Das Filtrat wurde nach vorheriger Neutralisierung mit Essigsäure bis zur schwachen Alkaleszenz 2 Kaninchen (V.T. 19 und 20) zu je 5 ccm subkutan injiziert.

Beide blieben völlig munter, so daß hiernach die Gegenwart eines Toxalbumins mit sauren Eigenschaften nicht sehr wahrscheinlich war. Die Möglichkeit, daß der wirksame Stoff in schwach alkalischer Flüssigkeit schwer oder unlöslich ist, lag noch vor; um auch das zu berücksichtigen, behandelte ich den beim vorigen Versuch erhaltenen Filterrückstand mit 1 Proz. HCl. Auch hier konnte ich beobachten, daß die Flüssigkeit erhebliche Mengen des Filterrückstandes löste, ich erhielt so eine schwach opalisierende, farblose Flüssigkeit, die ich für den Tierversuch nach vorher erfolgter schwacher Alkalisierung mit 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung verwandte.

Zwei Kaninchen, (V.T. 20 und 21 von 1000 bzw. 560 g Gewicht) von denen das eine fast doppelt so schwer wie das andere war, erhielten je 5 ccm der oben erwähnten Flüssigkeit subkutan eingespritzt und verendeten in derselben Nacht in der schon früher erwähnten charakteristischen hockenden Stellung. Bei der Sektion ergab sich ein dem früheren ähnlicher Befund. Der giftige Stoff dürfte also nach vorheriger Einwirkung von Alkohol ausgesprochen basische Eigenschaften zeigen und in alkalischen Flüssigkeiten wenig oder nicht löslich sein. Hiernach konnte noch ein alkaloidartiger Körper in Frage kommen.

Um auch diese Eventualität in Betracht zu ziehen, verdunstete ich das Filtrat von der Alkoholausfällung im Exsikkator bei gewöhnlicher Temperatur, es trat bei stärkerer Konzentration eine leichte Trübung auf. Um weitere Ausscheidung vielleicht wirksamer Stoffe zu vermeiden, verwandte ich den so erhaltenen Rest (ca. 20 ccm) für den Tierversuch.

Zwei Kaninchen (V.T. 22 und 23) von annähernd gleichem Gewicht wurden je 5 ccm subkutan injiziert. Beide blieben völlig munter und zeigten nicht die leiseste Andeutung einer schädlichen Einwirkung.

Ich glaube hieraus schließen zu dürfen, daß Alkaloide, Ptomaine oder ähnliche, chemisch genauer präzisierete Stoffe hierbei nicht in Frage kommen, da sich dann, wenn auch vielleicht nicht die Hauptmenge, so doch sicher ein für den Tierversuch hinreichendes Quantum im alkoholischen Filtrate hätte finden müssen.

Um nun zu prüfen, ob die physiologische NaCl-Lösung die ganze Summe der giftig wirkenden Stoffe aufgenommen, somit die Sarcosporidien-schläuche erschöpft habe, behandelte ich den nach der Auslaugung mit NaCl-Lösung bleibenden Rückstand mit 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung, das gelbliche Filtrat neutralisierte ich mit Essigsäure, es schied sich ein voluminöser Niederschlag aus. Das Filtrat hiervon verwandte ich nach vorheriger schwacher Alkalisierung mit Natr. carbon.-Lösung zum Tierversuch. 2 Kaninchen (V.T. 23 und 24) von annähernd gleichem Gewicht erhielten je 5 ccm des Filtrates Nachmittags 5 Uhr subkutan injiziert. Das eine Kaninchen verendet in der darauf folgenden Nacht vermutlich nach 10—12 Stunden. Das zweite dagegen erst nach 64 Stunden. Die Sektion ergab bei beiden ein dem bei den früheren Sektionen beobachteten völlig ähnliches Bild. Der durch Essigsäure erhaltene Niederschlag wurde nun feucht mit physiologischer NaCl-Lösung extrahiert, das Filtrat mit Alkohol ausgefällt, und der Rückstand mit 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung aufgenommen, lieferte ein Filtrat, das 2 Kaninchen (V.T. 25 und 26) zu je 5 ccm subkutan injiziert, ohne jede Wirkung für dieselben war.

Der Rückstand von der Extraktion mit 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung wurde noch mit 1-proz. HCl-Lösung extrahiert, dann nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur nach der Entfällung durch Aether mit 1-proz. NaOH-Lösung behandelt. Das Filtrat wurde nach vorher erfolgter schwacher Alkalisierung durch Na_2CO_3 oder nach Abstumpfung durch Essigsäure für den Tierversuch in der früheren Weise verwandt. Stets wurden 2 Kaninchen (V.T. 26 und 27) von möglichst gleicher Beschaffenheit je 5 ccm der fraglichen Lösung injiziert, aber in allen diesen Fällen ohne Erfolg.

Der fragliche giftige Stoff dürfte demnach wohl als ein eiweißhaltiger Körper, ein Toxin anzusprechen sein, das schwach saure Eigenschaften besitzt und welches von Eiweißkörpern begleitet oder an dieselben locker gebunden ist, die sich durch Ausfällen mit Essigsäure davon trennen lassen. Eine weitere chemische Klassifizierung des interessanten Körpers war mir bei der geringen Menge des zu Gebote stehenden Materials leider nicht möglich.

Die Toxine werden neuerdings von einer ganzen Reihe von Forschern Roux und Yersin (8), Vaillard und Vincent (9) zu den Enzymen gezählt, einerseits wegen ihrer immensen Wirkungsgröße, die in keinem Verhältnis steht zu der Menge des in Frage kommenden Stoffes, andererseits weil sie vielfach bezüglich ihrer spezifischen Wirkung oder doch ihres Wirkungsoptimum so frappant an die Enzyme erinnern, daß der

Gedanke, dieselben für identisch oder doch einander sehr nahe stehend zu halten, sehr nahe liegt. Die im Anschluß an obige Untersuchung angestellten Versuche mit den bei Schafen häufig gefundenen Sarkosporidienschläuchen sind vielleicht geeignet, durch die dadurch erhaltenen Resultate die vorhin erwähnte Ansicht zu stützen.

Die vorausgegangenen Versuche ließen stets noch den Einwand zu, es könnten kleinste Gewebeteilchen oder doch, und dies trifft für die völlig klaren Filtrate zu, größere Eiweißkomplexe die immens giftige Wirkung verursacht haben. Ich beschloß deshalb, den Glycerinauszug, nach vorheriger entsprechender Verdünnung, gegen destilliertes Wasser, dem ich, um Fäulnisprozesse zu verhüten, einige Tropfen Chloroform zugesetzt hatte, zu dialysieren.

Das nur schwach opalisierende Dialysat wurde in der gewohnten Weise zum Tierversuch verwandt. Das Kaninchen starb nach 24 Stunden, so daß also der giftige Stoff dialysierbar sein mußte, eine Eigenschaft, die bei den Eiweißkörpern nur ausnahmsweise beobachtet wird. Das Dialysat zeigte sich sehr haltbar, noch nach 8 Wochen verlief der Tierversuch durchaus in der üblichen Weise, eine Eigenschaft, die gleichfalls einer Reihe von Enzymen zukommt. Das aufgekochte Dialysat zeigte sich vollständig unwirksam. Das Dialysat benutzte ich auch für einige chemische Reaktionen. Die Lösung gab die Biuret-Reaktion nicht, mit Quecksilber-Chloridlösung (1:100) entstand ein weißer, flockiger Niederschlag, der auch nach längerer Zeit nicht kristallinisch wurde. Mit Gold-Chlorid (1:100) trat zunächst eine weiße, flockige Fällung auf, die aber bald durch Reduktion sich violett färbte.

Nesslers Reagens (1:10) gab eine schwach gelbliche Fällung, ähnlich wirkte Brückes Reagens. Mit Tanninlösung (1:10) entstand ein weißer flockiger Niederschlag, der sich bald zusammenballte, ebenso gab Jodjodkaliumlösung (1,0:100,0) einen amorphen, rotbraunen, flockigen Niederschlag, der auch nach längerem Stehen nicht kristallinisch wurde, Phosphormolybdänsäurelösung gab einen flockigen, grünlich-weißen Niederschlag. Beim Erhitzen der klaren Lösung färbte sich die vorher fast farblose Flüssigkeit schwach gelblich, ohne daß eine Koagulation erfolgte. Beim Erwärmen mit Ferrocyankaliumlösung und Essigsäure trat eine Trübung der Flüssigkeit nicht ein, auch trat nach Ubersättigen der Lösung mit Ammon und Magnesiumsulfat eine Ausscheidung aus der Lösung nicht ein. Es lag hier also die Lösung eines Körpers vor, der zwar noch einige der für Eiweißverbindungen charakteristischen Fällungsreaktionen gab, sich im allgemeinen aber doch ganz erheblich von der Mehrzahl derselben unterschied. 1) Er schied sich nicht beim Erhitzen der Lösung ab, 2) wurde durch Neutralsalze nicht gefällt, 3) auch nicht durch Ferrocyankalium und Essigsäure, 3) gab die Biuret-Reaktion nicht, 5) war er dialysierbar, 6) war auch in wässriger Lösung ohne besondere Vorsichtsmaßregel auffallend lange haltbar (8 Wochen), 7) zeigte enorme spezifisch-toxische Wirkung, scheinbar nur für Kaninchen.

Besonders die letzte Eigenschaft unterscheidet ihn ziemlich erheblich von der Hauptmenge der Toxine, deren allgemeine giftige Eigenschaften sich nicht auf eine Tierpezies zu beschränken pflegen. Die Dialysierbarkeit stellt ihn den Enzymen nahe, von denen sicher eine ganze Zahl diese Eigenschaft besitzen wird, wenn auch bestimmte Angaben zur Zeit mir nicht bekannt sind.

Soweit waren unsere Versuche selbständig gedingen, als ich

(Rievel) beim Niederschreiben der Arbeit die Angaben von Pfeiffer (3) lese, „daß er in dem wässerigen und Glycerinextrakt der Sarkosporidienschläuche vom Oesophagus des Schafes ein Mittel kennen gelernt habe, welches, ähnlich dem Kochschen Tuberkulin, in kleinen Dosen eine ganz prompte Fieberbewegung, in großen Dosen Kollapserscheinungen bei geimpften Kaninchen hervorruft.“ Unsere Versuche ergeben das gleiche Resultat bezüglich des Temperaturabfalles nach der Injektion großer Mengen von Sarkosporidieninhalt, jedoch ein vollständig abweichendes bei der Tuberkulinverimpfung. 0,5 ccm Tuberculinum Kochii, frisch von den Höchster Farbwerken bezogen, werden mit 10 ccm Alkohol gefällt und der Niederschlag in 4,5 ccm Aq. carbol. gelöst; dieses wurde einem Kaninchen (V.T. 40) von 570 g subkutan injiziert; keine Temperatursteigerung oder -abfall. Ein anderes Kaninchen (V.T. 41) von 568 g wurde mit dem zur Trockne eingedampften obigen Filtrat nach Lösung in 4,5 ccm Aq. carbol. ebenfalls subkutan geimpft mit gleich negativem Erfolge; desgleichen V.T. 42 mit 1 ccm Tb.:4,5 ccm Aq. carbol.; V.T. 43 mit 2 ccm. Tb.:4,5 ccm Aq. carbol.; V.T. 44 (340 g) mit 4 ccm Tb.:4,5 ccm Aq. carbol. und V.T. 45 (340 g) mit 5 ccm (!) Tb.:4,5 ccm Aq. carbol.

Temperaturkurven.

	10 Uhr vor der Impfung	11 Uhr	12 Uhr	1 Uhr	2 Uhr	3 Uhr
V.T. 40 mit 0,5 ccm Tb.	40,1	39,8	39,6	39,8		
V.T. 41 „ 0,5 „ „	39,9	38,9	39,6	40,0		
V.T. 42 „ 1 „ „	39,5	39,6	39,7	39,6		
V.T. 43 „ 2 „ „	39,4		39,8	39,9		
V.T. 44 „ 4 „ „	39,8	39,7	39,1	40,0	—	40,0
V.T. 45 „ 5 „ „	39,7	38,6	39,2		40,1	40,2

Die Tiere zeigten sämtlich keinerlei Störung in ihrem Allgemeinbefinden. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Kaninchen fast gar nicht auf die Einspritzung des Tb. weder in kleinen noch in großen Dosen (5 ccm Tb. auf 340 g Gewicht) reagieren. Dieser negative Ausfall beruht nicht etwa auf einer schlechten Beschaffenheit des bezogenen Tb.; denn es sind von dem gleichen Tb. zahlreiche Impfversuche bei Rindern gemacht worden mit einwandfreien Resultaten!

Pfeiffer beobachtete ferner eine mehr oder weniger starke Reizwirkung an der Impfstelle und Schnupfen und Durchfall der Impftiere; dieses wurde bei uns in keinem Falle gefunden! Der Kot war vielmehr stets noch geballt!

Laveran und J. Mesnil (10) benannten den bei den Sarkosporidien der Schafe gefundenen Giftstoff Sarcocystin und führen an, daß derselbe für Ratten und Mäuse selbst in großen Dosen unschädlich sei. Sie halten denselben für ein Toxin. Nach unseren Untersuchungen sind die Enzyme der Sarkosporidien vom Lama für Mäuse keineswegs unschädlich, sondern sie töten ($\frac{1}{2}$ ccm) eine weiße Maus (V.T. 10) nach einigen Tagen unter den typischen Erscheinungen. Sie sind ferner der Meinung, daß das Sarcocystin nicht direkt auf das Zentralnervensystem einwirkt, weil die intracerebrale Injektion nicht wirksamer sei wie die subkutane und weil es nicht gelungen sei, die Toxine durch Beimischung von Kaninchenhirnsubstanz in vitro zu fixieren! Unsere Versuche beweisen gerade das Gegenteil! Der klinische Verlauf, der Sektionsbefund, die

Möglichkeit durch Verimpfung von Hirnmasse eines verendeten Kaninchens die gleiche Krankheit zu erzeugen, beweisen doch, daß diese Enzyme primo loco das Zentralnervensystem befallen und sich hier gleichsam in größerer Menge ansammeln.

Wiewohl die Sarkosporidien der Schafe, Schweine wie auch des Lama derartig stark wirkende Giftstoffe enthalten, so verursachen sie wunderbarerweise ihren Wirten wenig bzw. gar keine Beschwerden. Wenn man bedenkt, wie die Sarkosporidiensäckchen von einer so dichten und verhältnismäßig dicken Membran vollständig eingeschlossen sind, so liegt die Vermutung nahe, daß diese im lebenden Zustande für die Enzyme undurchgängig sei. Zur Prüfung der Durchlässigkeit legten wir einige Sarkosporidiensäckchen in 1-proz. Arg. nitr.-Lösung 2 Tage hindurch und dann in $\frac{1}{3}$ -proz. Kal. bichromat-Lösung 2 Tage lang. In den histologischen Schnitten war aber keinerlei Abscheidung von rotem Chromsilber zu entdecken. Es dürfte demnach wohl die Annahme berechtigt erscheinen, daß die Membran wenig oder gar nicht durchlässig ist. Andererseits könnte es ja aber auch denkbar sein, daß das Lama den Enzymen gegenüber unempfindlich ist; dieses konnten wir aus leicht begreiflichen Gründen nicht feststellen.

3) Immunisierung.

Da es von großem wissenschaftlichen Interesse war, ob man Kaninchen nicht an diese so eigenartig sich verhaltenden Enzyme gewöhnen könne, sahen wir uns veranlaßt, Immunisierungsversuche vorzunehmen. Wir benutzten als Impfmateriale das letzte Dialysat, welches im stande war, ein 500 g schweres Kaninchen in Menge von 5 ccm innerhalb von 24 Stunden zu töten. 1,0 ccm Dialysat wurde mit 9 ccm Aq. dest. verdünnt und hiervon 5 ccm einem 2250 g schweren Kaninchen (V.T. 46) subkutan injiziert. Tot nach 20 Stunden. Wir verdünnten nunmehr 1:100 und injizierten hiervon gleichfalls 5 ccm einem 360 g schweren Kaninchen (V.T.), welches gleichfalls nach 16 Stunden verendete. Erst eine Verdünnung von 1:300 war erforderlich, um die Impftiere am Leben zu erhalten. Es wurden einem Kaninchen (V.T. 48) von 410 g Gewicht in Zwischenräumen von je 2 Tagen je 5 ccm einer Dialysatverdünnung von 1:300, 1:200, 1:100, 1:75, 1:50 und 1:25 injiziert, ohne daß eine Erkrankung zu beobachten gewesen wäre. Tags bevor es 5 ccm unverdünnten Dialysats erhalten sollte, starb jedoch das Kaninchen an Pyämie. Wegen Mangel an Material konnten wir diese Immunisierungsversuche nicht wiederholen. Man ist jedoch wohl berechtigt, auf Grund dieses Versuches anzunehmen, daß eine Immunisierung möglich ist.

Zusammenfassung der Resultate.

- 1) Die beim Lama (*Auchenia*) gefundenen Sarkosporidien unterscheiden sich in Bau und Größe von den bisher bekannten Arten.
- 2) Die Sarkosporidiensäckchen des Lama enthalten ungewöhnlich heftig wirkende Giftstoffe, welche lähmend auf das Zentralnervensystem wirken.
- 3) Diese Giftstoffe sind ihren chemischen und physiologischen Eigenschaften nach keine Toxine, sondern sie stehen den Enzymen weit näher.
- 4) Eine Immunisierung der Kaninchen hingegen ist möglich.

Litteratur.

- 1) Laveran et Mesnil, A. F., Compt. rend. de la Société de biologie. 1899. p. 245.
- 2) Bertram, Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien. 1892.
- 3) Pfeiffer, Protozoen als Krankheitserreger. 1891.
- 4) Wasielewski, Sporozoenkunde. 1896.
- 5) Labbée, Sporozoen im Tierreich. 1901.
- 6) van Eecke, Inarverslag laborat. v. path. anat. en bacter. Weltwreden. 1891.
- 7) Koch, Verhandlungen d. V. internat. Zoolog. Kongresses. Berlin. 1901.
- 8) Roux et Yersin, Annal. Inst. Pasteur. 1888.
- 9) Hygienische Rundschau I. (143) 1891.
- 10) Laveran et Mesnil, De la Sarkocystine. (Compt. rend. de la Soc. de biologie 1899. p. 311.)

Nachdruck verboten.

Neue Helminthen.

Von Dr. v. Linstow in Göttingen.

Mit 8 Figuren.

Die Gelegenheit, den hier beschriebenen Helminthen untersuchen zu können, verdanke ich der Güte des Herrn Dr. Shipley in Cambridge, dem ich an dieser Stelle für seine Freundlichkeit nochmals bestens danke.

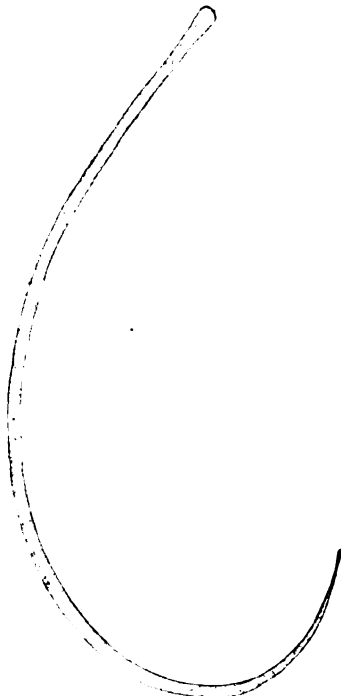
***Filaria haemophila* n. sp.**(Fig. 1—2) aus der Aorta von *Bos bubalus*, Malay Peninsula, Hinterindien.

Fig. 2.

Es waren 2 Weibchen, ein vollständiges und ein zerrissenes Exemplar vorhanden. Die Länge des Ersteren beträgt 232 mm, die Breite vorn 0,59, in der Mitte 1,78, hinten 0,32 mm. Der Körper ist

gerade gestreckt und auffallend brüchig. Die Cuticula ist in Abständen von 0,017 mm queringelt. Das Kopfende ist gerade abgestutzt, in der Scheitelgegend sieht man eine kleine trichterförmige Einziehung; Papillen und Zähne fehlen; das Schwanzende ist gerundet und ein Anus ist nicht vorhanden. Der Oesophagus ist 40 mm lang, die Vulva mündet 1,1 mm vom Kopfende. Die Art ist vivipar, der Uterus enthält Eier und Embryonen in zahlloser Menge; erstere sind sehr dünnhäutig und 0,060 lang und 0,055 mm breit; der fertig gebildete Embryo liegt aufgerollt in ihnen. Die freien embryonalen Larven sind sehr lang gestreckt,



Fig. 1.

Fig. 1—2. *Filaria haemophila*. 1. Ei mit Embryo, 2. embryonale Larvenform.

0,34—0,36 mm lang und 0,0069 mm breit; das Kopfende ist knopfförmig verdickt, das Schwanzende fein zugespitzt; die Grenze von Oesophagus und Darm ist nicht erkennbar, der Anus auch nicht; die Cuticula erscheint glatt. Die embryonale Larvenform kann wohl nur in das Blut des Wohntieres hinein geboren werden, und haben wir hier ohne Zweifel die Geschlechtsform einer neuen Blutfilarie vor uns.

In Bos sind bisher 4 Filarienarten gefunden, die aber nicht im Herzen und den Gefäßen leben; *Filaria papillosa* Rud., *F. Bubali* Molin und *F. habiatio-papillosa* Alessandr. haben ein mit konischen Zähnen bewaffnetes Kopfende, *Filaria lacrymalis* Gurlt ist nur 10—24 mm lang und bewohnt die Tränenwege.

Im Herzen und den großen Gefäßen des Menschen und der Wirbeltiere leben folgende Filarien, deren embryonale Larvenform das Blut der Wirte in ungeheuren Mengen bevölkert:

Filaria Magalhãesi Blanchard in *Homo sapiens*.

Filaria immitis Leidy in *Canis familiaris*, *Canis lupus* und *Canis vulpes*.

Filaria spirocauda Leidy in *Phoca vitulina*.

Filaria hebetata Cobbold in *Cystophora cristata*.

Filaria Evansi Lewis in *Camelus dromedarius*.

Filaria Corvi torquati Cobbold u. Manson in *Corvus torquatus*.

Filaria Cistudinis Leidy in *Cistudo carolina*.

Distomum lymphaticum n. sp.

(Fig. 3—4) aus *Mustelus vulgaris* M. u. H. Pharynx.

Länge 2,1—2,7 mm, Breite 1,1—1,2 mm; Körper vorn gerundet, hinten bald abgerundet, bald kegelförmig zugespitzt; Cuticula ohne Dornen, kräftig entwickelt, 0,0104 mm dick; unter ihr liegt eine breite Subkutikularschicht mit Kernen und unter dieser zunächst eine Lage Ring-, dann eine Längsmuskeln. Der Mundsaugnapf ist 0,63 mm groß, der etwa in der Mitte des Körpers gelegene Bauchsaugnapf ist kleiner und mißt 0,55 mm, das Lumen beider ist breiter als lang. Auf den Mundsaugnapf folgt ein großer, gestreckter Pharynx, von dem der Darm entspringt, dessen Schenkel nach vorn und hinten ziehen; die vorderen reichen bis 0,6 mm vom Kopfende, die hinteren bis 0,22 mm vom Schwanzende.

Dorsal vom Bauchsaugnapf liegt die Schalendrüse, dicht hinter ihr liegt der Dottersack und hinter ihr dicht gedrängt zunächst der Keimstock und dann die beiden viereckigen Hoden. Die Dotterdrüsen sind auf die Dorsalseite der hinteren Körperhälfte beschränkt, wo sie dicht unter den Längsmuskeln liegen. Der Uterus macht wenig Windungen, die in der hinteren Körperhälfte verlaufen, ein Laurerscher Kanal fehlt. Die gelben gedeckelten Eier sind 0,073 mm lang und 0,044 mm breit. Merkwürdig ist das Genitalatrium gebaut, das mit einer großen Öffnung ventral vom Hinterende des Pharynx mündet und das Vas deferens und den Uterus, der zugleich als Vagina dient, aufnimmt. Das Organ ist sehr groß und liegt ventral zwischen dem Hinterende des Pharynx und dem Vorderteil des Bauchsaugnapfes; es ist ein großer Hohlraum, der durch 2 von rechts nach links verlaufende Scheidewände geteilt wird; ein Cirrus und ein Cirrusbeutel fehlt.

Auffallend sind 2 große, dünnwandige, vorn und hinten geschlossene Schläuche, die ich als Lymphschläuche bezeichnen möchte; sie liegen nach außen und dorsal von den Darmschenkeln; von den Windungen

erstrecken sich quere Ausläufer in das Lumen hinein; ganz vorn neben dem Mundsaugnapf sind sie nur 0,044 mm breit und kreisrund im Querschnitt, in der Mitte des Körpers haben sie einen Durchmesser von 0,26 mm, und ganz hinten werden sie wieder erheblich schmaler.

In Haien und Rochen sind zur Zeit 18 *Distomum*-Arten gefunden; zu *Apoblemma* gehören *D. rufoviride* Rud. und *D. appendiculatum* Rud., zu *Echinostomum* *D. cesticillus* Molin = *valdeinflatum* Stossich; *D. torosum* Setti hat einen seltsam gebauten Hinterkörper; durch ihre Größe schon unterschieden, die zwischen 15 und 80 mm schwankt, sind *D. megastomum* Rud., *D. veliporum* Crepl. = *microcephalum* Baird und *D. ligula* Van Be-

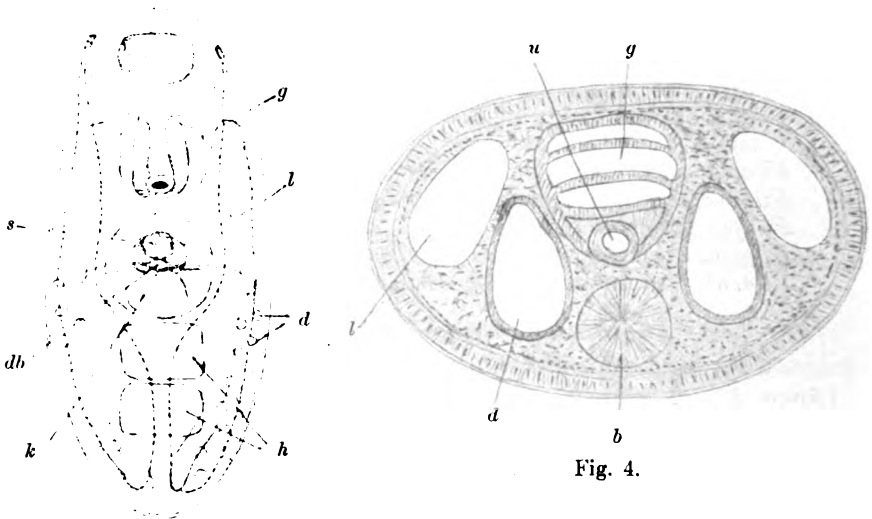


Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 3—4. *Distomum lymphaticum*. 3. schematische Zeichnung des ganzen Tieres, *g* Genitalatrium, *l* Lymphraum, durch eine punktierte Linie bezeichnet, *d* Dotterstock, *db* Dotterblase, *h* Hoden, *k* Keimstock, *s* Schalendrüse. 4. Querschnitt, *g* Genitalatrium, *u* Uterus und Vagina, *b* Bauchsaugnapf, *d* Darm, *l* Lymphraum.

neden, von Leuckart in seinem Jahresbericht 1870—71 irrtümlich *D. ringens* genannt; *D. Pristiophori* Johnston ist lang gestreckt und bedornt und der Bauchsaugnapf liegt ganz vorn; *D. Ragazzi* Setti und *D. megastoma* Van Beneden (*nec megastomum* Rud.) sind vorn schlank und verdünnt, hinten aufgetrieben; erstere Art hat einen regelmäßig hin- und hergewundenen Uterus, letztere zeigt dorsal Querriegel; *D. soccus* Molin, bis 10 mm lang, hat gleiche Saugnapfe und ist dorsal konvex, ventral konkav; *D. continuum* Ariola und *D. cestoides* Van Beneden sind bedornt, bei *D. insigne* Dies., *D. fulvum* Rud., *D. Richiardii* Lopez und *D. megatocyle* Monticelli ist der Bauchsaugnapf größer als der Mundsaugnapf; endlich bei *D. Betencourti* Monticelli = *luteum* Van Beneden, liegen die Hoden nebeneinander.

Epibdella producta n. sp.

(Fig. 5—6) vom Rücken von *Solea vulgaris*.

Länge 3,35 mm. Breite 1,78 mm. Kopfende mit zwei Pseudoventosen, ohne eigentliche Säugnapfe; Länge der Schwanzscheibe fast

¹/₃ der ganzen Körperlänge ausmachend, vorn verbreitert, hinten gerade abgestutzt, mit 3 Hakenpaaren, die vorderen stark gekrümmt, vorn spitz, ohne Geradestreckung 0,21 mm lang; die mittleren, ebenso gemessen, 0,45 mm lang, hinten hakenförmig; die hintersten 0,018 mm lang, in 2 lange Sehnen auslaufend, welche das Hinterende der mittleren umfassen; die vorderen sind braun, die mittleren gelb, die hinteren farblos. Die größte Achse der nebeneinander liegenden Hoden steht im rechten Winkel zur Längsachse des Körpers. Die Geschlechts- und anderen Organe sind im übrigen so angeordnet, wie bei den übrigen Arten des

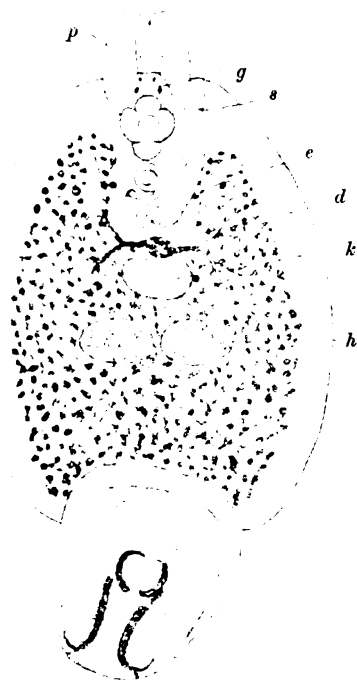


Fig. 5.



Fig. 6.

Fig. 5—6. *Epibdella producta*. 5. Das ganze Tier; *p* Pseudoventosen, *g* Gehirn mit Ocellen, *s* Geschlechtsausmündungsgänge, *e* Exkretionsöffnungen, *d* Dotterblase, *k* Keimstock, *h* Hoden. 6. Die 3 Hakenpaare der Schwanzscheibe.

Genus; genauere Untersuchungen zu machen war nicht möglich, da ich die 3 vorhandenen Exemplare erhalten wollte.

Monticelli teilt die bisher bekannten Arten des Genus *Epibdella* in 2 Subgenera:

a) *Phylline*, vorn mit 2 Pseudoventosen:

Hippoglossi Müller von *Hippoglossus*,
Soleae Van Beneden u. Hesse von *Solea*,
Bumpusii Linton von *Trygon*,
Diadema Monticelli von *Trygon*,
Squamula Heath von *Paralichthys*.

b) *Benedenia*, vorn mit 2 Saugnäpfen:

Sciaenae Van Beneden von *Sciaenae*,
Hendorffii v. Linstow von *Coryphaena*,

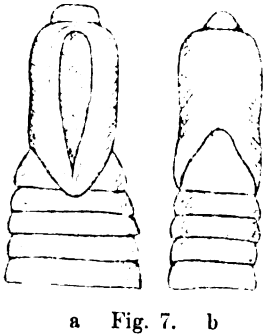
Ovata Goto von *Anthias*,
Ishikawae Goto von *Lehrinus*,
Monticellii Parona von *Mugil*.

Epibdella Soleae Van Beneden u. Hesse ist 6—7 mm lang, der Körper ist schlank, gestreckt, 3mal länger als breit, der Rand der Pseudoventosen und der Schwanzscheibe ist gewellt, erstere sind fächerförmig gestaltet, die beiden Hoden sind so gestellt, daß ihre längsten Durchmesser einen nach vorn offenen Winkel von etwa 90° bilden. Die vorderen Haken der Schwanzscheibe sind geknöpft an der Basis, die mittleren sind sehr dünn und schlank, etwa 7mal länger als erstere, die hinteren, kleinen fehlen oder sind übersehen.

***Bothriocephalus (Bothriotaenia) monorchis* n. sp.**

(Fig. 7—8) aus *Orthagoriscus mola* Cornwall.

Länge bis 210 mm, Skolex 1,14 mm lang und 0,75 mm breit, Sauggruben flächenständig, ohne Haken, vorn abgerundet, hinten spitz auslaufend; ein sogenannter Hals fehlt; die ersten Proglottiden sind 0,28 mm lang und 1,07 mm breit, die reifen sind 0,24 mm lang, die Breite beträgt in der Mitte 2,37, hinten 1,58 mm. Die Cirren und Vaginen stehen randständig, unregelmäßig abwechselnd, erstere sind 0,40 mm lang und 0,066 mm breit und ungedornt. Die Cuticula ist zart; die Rindenschicht ist stark entwickelt und nimmt $\frac{1}{5}$ des Dorsoventraldurchmessers ein; unter der Subcutikularschicht liegt eine Ringmuskellage und unter dieser eine sehr mächtige Schicht von Längsmuskelbündeln, die mitunter zu einer zusammenhängenden Schicht vereinigt sind. Die Hauptlängsnerven



a Fig. 7. b



k Fig. 8.

Fig. 7—8. *Bothriocephalus (Bothriotaenia) monorchis*. 7a Skolex von der Fläche, b von der Kante; 8. Querschnitt, schematisch, l Längsmuskeln, n Nerv, g Gefäß, h Hodengruppe, v Vagina, k Keimstock, d Dotterstock, db Dotterblase, u Uterus.

verlaufen vom Rande weit entfernt; wenn man den Querdurchmesser der Proglottide in 100 gleiche Teile teilt, finden sie sich im 22. und 78. Abschnitt; der Querdurchmesser beträgt 0,0143, der Längsdurchmesser 0,0052 mm nach innen von ihnen verlaufen 2 Hauptlängsgefäße an den Teilpunkten 30 und 70. Die Hoden bilden auffallenderweise eine dicht gedrängte Gruppe, die an der Seite der Geschlechtsöffnungen liegt; die einzelnen Hoden sind 0,088 mm lang und 0,062 mm breit; der Cirrusbeutel ist mit Schlingen des Vas deferens erfüllt und nimmt $\frac{1}{4}$ des

Querdurchmessers der Proglottide ein. Der Keimstock erfüllt etwa $\frac{1}{5}$ desselben; er liegt dorsal, der Uterusöffnung gegenüber; die Keimzellen sind 0,0078 mm groß. Die Dotterstocksfollikel sind in der Markschiebt verteilt und sind sehr wenig zahlreich; die Dotterzellen messen 0,0041 mm; die Dotterblase liegt ventral, nicht genau in der Mittellinie, sondern etwas nach dem Rande gerückt, der ohne Geschlechtsöffnungen ist. Die Eier sind gedeckelt, 0,067—0,096, durchschnittlich 0,073 mm lang und 0,039—0,049, durchschnittlich 0,044 mm breit.

Zusatz.

Soeben erhalte ich die Arbeit: Carougeau et Marotel, Une nouvelle Filaire parasite du sang (Revue générale de méd. vétérin. 1903. No. 8. p. 447—454), in welcher *Filaria Blini* n. sp. aus der Aorta des indischen Büffels beschrieben wird, mit der ohne Zweifel meine *Filaria haemophila* identisch ist; das Kopfende ist an der Innenwand der Arterie befestigt; das Männchen ist 50—70 mm lang und 0,25—0,30 mm breit, das Weibchen 150—200 und 1,5—2 mm. Dr. v. Linstow.

Nachdruck verboten.

Die Wirkung gewisser ionisierbarer Salze auf die Lysine im menschlichen Serum.

;¹[Aus dem Memorial-Institute für Infektionskrankheiten in Chicago.]

Von Ludvig Hektoen.

Um die Wirkung gewisser Stoffe, namentlich der im Blute vorkommenden anorganischen Salze, auf die an der Hämolyse und anderen Formen der Cytolyse beteiligten Körper zu untersuchen, kann man bei den gebräuchlichen Experimenten statt der Natriumchloridlösungen Lösungen anderer Salze in der Stärke der sogenannten gewöhnlichen physiologischen Kochsalzlösung (0,8-proz.) anwenden. Auf diesem Wege kann vielleicht auf wichtige Tatsachen Licht geworfen werden. Vielleicht werden Substanzen gefunden, die in irgend einer Weise die bakteriolytischen, hämolytischen und anderen Eigenschaften des Serums aufheben, vermindern oder verändern. Vielleicht fällt etwas Licht auf den Mechanismus, der die Aufhebung oder Verminderung der bakteriolytischen Kraft des menschlichen Serums unter gewissen Bedingungen verursacht und so vermutlich die Entwicklung bestimmter Allgemeininfektionen, wie z. B. beim Typhus, begünstigt. Mit diesen und anderen hiermit mehr oder weniger zusammenhängenden Erwägungen wurden Experimente mit menschlichem Serum begonnen und die Wirkungen verschiedener Salzlösungen auf ihre hämolytischen und bakteriolytischen Kräfte bestimmt. In dieser vorläufigen Mitteilung möchte ich in gedrängter Form einige der Ergebnisse vorlegen, die bei den Experimenten erzielt worden sind, welche die Wirkung von Salzlösungen auf die Hämolyse der Kaninchenblutkörperchen durch menschliches Serum bestimmen sollten¹).

Während viele Salzlösungen, namentlich NaCl, KCl- und LiCl-

1) Genauerer über die Wirkung von menschlichem Serum auf die Blutkörperchen des Kaninchens siehe bei Wenstrand. Transactions of Chicago Pathological Society, 1903.

Lösungen, die hämolytischen und bakteriolytischen Substanzen im menschlichen Serum intakt zu erhalten scheinen, kann man aus Tabelle I sehen, daß $\frac{gm}{8}$ -Lösungen von $CaCl_2$, $BaCl_2$, $SrCl_2$, $MgSO_4$ und K_2SO_4 die Kraft besitzen, die hämolytische Serumwirkung auf die Blutkörperchen des Kaninchens aufzuheben.

Tabelle I. Zeigt die Wirkung gewisser Salzlösungen auf die Hämolyse von Blutkörperchen des Kaninchens durch menschliches Serum.

$\frac{gm}{8}$ -Lösung	von	CaCl ₂	:	4	ccm	+ Serum	:	2	ccm	=	keine Hämolyse
"	"	"	:	2	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	1	"	+	"	.2	"	=	Spur "
"	"	"	:	0,5	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	BaCl ₂	:	4	"	+	"	.2	"	=	keine Hämolyse
"	"	"	:	2	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	1	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	0,5	"	+	"	.2	"	=	Spur "
"	"	SrCl ₂	:	4	"	+	"	.2	"	=	keine Hämolyse
"	"	"	:	2	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	1	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	0,5	"	+	"	.2	"	=	Spur "
"	"	MgSO ₄	:	4	"	+	"	.2	"	=	keine Hämolyse
"	"	"	:	2	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	1	"	+	"	.2	"	=	Spur "
"	"	"	:	0,5	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	K ₂ SO ₄	:	4	"	+	"	.2	"	=	keine Hämolyse
"	"	"	:	2	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	"	:	1	"	+	"	.2	"	=	Spur "
"	"	"	:	0,5	"	+	"	.2	"	=	" "
"	"	NaCl	:	4	"	+	"	.2	"	=	ausgesprochene Hämolyse

Diese Salzlösungen wirken an und für sich nicht hämolytisch auf die Blutkörperchen von Kaninchen, mit Ausnahme der $CaCl_2$ -Lösung, die bisweilen eine schwache Hämolyse bei gewaschenen Blutkörperchen zu verursachen scheint. Ich will hier gleich hinzufügen, daß andere Experimente, deren Resultate bei einer anderen Gelegenheit vorgelegt werden sollen, zeigen, daß die eben aufgeführten Salzlösungen ebenso gut wie andere den destruktiven Einfluß menschlichen Serums auf Typhusbacillen vernichten oder bedeutend vermindern. So zeigen vorläufige Experimente, daß Natriumtartrat und ebenso andere Salze auf die Lysine des menschlichen Serums einen zerstörenden Einfluß ausüben. Ich möchte hier auch darauf hinweisen, daß Wenstrand¹⁾ auf eine unbekanntere Verunreinigung seiner NaCl-Lösung stieß, welche die hämolytische Wirkung des Serums auf Blutkörperchen des Kaninchens stark herabsetzte. Ich habe gleichfalls gefunden, daß Verdünnung des Serums mit reinem destilliertem Wasser seine bakterizide Wirkung auf Typhusbacillen zerstört. Es scheint, als ob der Verlust an bakterizider Kraft in dialysiertem Serum durch den sich ergebenden Ueberschuß an Wasser zu erklären wäre. Bei den in Tabelle I zusammengefaßten Experimenten blieben Serum und Salzlösungen während einer Stunde bei Zimmertemperatur (Sommer) in Kontakt, bevor gewaschene Kaninchenblutkörperchen zugesetzt wurden. (Wenn die Körperchen der Mischung von Serum und Salzlösung gleich nach ihrer Zusammenstellung zugesetzt werden, so kann Hämolyse eintreten.) Sämtliche Röhren wurden dann durch Zufügung von $\frac{gm}{8}$ -Natriumchloridlösung auf 2 ccm gebracht.

1) Loc. cit.

für 2 Stunden bei 35° C in den Brutschrank und danach für 24 Stunden in den Eisschrank gestellt.

Nachdem festgestellt war, daß die in der Tabelle aufgeführten Lösungen die durch menschliches Serum herbeigeführte Hämolyse von Kaninchenblutkörperchen aufheben, tauchte die Frage auf, in welcher Weise die Wirkung der Salzlösungen vor sich geht. Greifen sie die Körperchen selbst an und verändern sie diese in irgend einer Weise, so daß der vermittelnde Zwischenkörper sich nicht mit ihnen verbinden kann? Oder ist die auf den Zwischenkörper ausgeübte Wirkung derartig, daß er sich nicht mit den Blutkörperchen verbinden kann, oder ist er vielleicht an der Verbindung mit dem Komplement verhindert? Schließlich gibt es noch eine dritte Möglichkeit, nämlich, daß das Komplement angegriffen und entweder gänzlich ausgeschaltet oder doch so modifiziert werden kann (entweder in seiner haptophoren oder toxophoren Gruppe), daß es infolge eines dieser Gründe verhindert ist, die hämolytische Reaktion herbeizuführen. Zur Lösung dieser Probleme ist es nötig, die Wirkung der Lösungen auf die drei verschiedenen, bei der Hämolyse in Betracht kommenden Faktoren, nämlich die Blutkörperchen, den vermittelnden Zwischenkörper und das Komplement, zu untersuchen.

Daß die Lösungen wahrscheinlich den Rezeptorenapparat der Körperchen nicht derartig verändern, um ihre Hämolyse durch menschliches Serum zu verhindern, scheint sich mit Sicherheit aus der Tatsache zu ergeben, daß gewaschene Körperchen, die für 1—2 Stunden in den Lösungen behandelt und dann wiederholt in Lösungen von Natriumchlorid gewaschen werden, noch der Hämolyse zugänglich sind, falls sie mit frischem Serum vermischt werden.

Das Studium der Wirkung der Salzlösungen auf den Zwischenkörper bietet gewisse augenscheinliche Schwierigkeiten. Mischt man das erhitzte Serum mit Lösungen der verschiedenen Salze und fügt man alsdann das Komplement wie bei den gewöhnlichen Aktivierungsexperimenten hinzu, so erhält man dieselben Resultate, als wenn man die Salzlösungen mit dem ganzen Serum mischt, und da unmöglich bei diesen Experimenten eine eventuelle Wirkung der Salze auf das Komplement auszuschließen ist, so kann man keine Schlüsse ziehen, welcher der beiden Körper nun eigentlich angegriffen ist, ob der Zwischenkörper oder das Komplement. Es ist möglich, dadurch, daß man gewaschene Blutkörperchen entweder frischem oder erhitztem Serum aussetzt (bei Anwendung von frischem Serum muß die Aussetzung 30 Minuten bei 2—3° über dem Gefrierpunkt dauern), eine feste Verbindung zwischen den Blutkörperchen und dem Zwischenkörper zu bewirken. Wie bekannt, werden derartige Absorptionsexperimente gemacht, um den Zwischenkörper vom Komplement in hämolytischen und anderen Seris zu scheiden, da das Komplement unter diesen Umständen sich nicht mit dem Zwischenkörper vereint. Durch eine dieser Methoden kann man sensibilisierte Blutkörperchen erzielen, d. h. Körperchen, die an die Ambozeptoren gebunden sind, so daß selbst nach wiederholtem Waschen rasch Hämolyse durch Zusatz geringer Mengen reinen Komplementes erzielt wird. Nun haben wiederholte Versuche gezeigt, daß, wenn man gewaschene sensibilisierte Blutkörperchen 2 Stunden lang den verschiedenen vorhin erwähnten Salzlösungen aussetzt und sie danach wieder mehrmals in Natriumchloridlösung wäscht, dies die Hämolyse nicht merklich zu beeinträchtigen scheint, wenn reines Komplement zugesetzt wird. Auf diese in Tabelle II dargelegte Art und Weise war es möglich, zu demonstrieren, daß die

Salzlösungen die komplementophilen Gruppen der Zwischenkörper nicht ändern.

Tabelle II. Es wird gezeigt, daß gewisse Salzlösungen keine Wirkung auf sensibilisierte Blutkörperchen von Kaninchen haben, welche der Wirkung des menschlichen Serums ausgesetzt waren.

Sensibilisierte Blutk.	in $\frac{\text{gm}}{\text{g}}$	- CaCl ₂ - Lös.	während 2 Std.	+ Kompl.	. 2 =	ausgespr. Hämolyse
"	"	BaCl ₂ -Lös.	"	2	" + "	. 2 = " "
"	"	SrCl ₂ - Lös.	"	2	" + "	. 2 = " "
"	"	MgSO ₄ -Lös.	"	2	" + "	. 2 = " "
"	"	K ₂ SO ₄ -Lös.	"	2	" + "	. 2 = " "
"	"	NaCl-Lös.	"	2	" + "	. 2 = " "
Gewaschene	"	"	"	2	" + "	. 2 = keine "

Nachdem gezeigt war, daß die Salzlösungen weder die Rezeptoren der Blutkörperchen noch die komplementophile Gruppe der Ambozeptoren angreifen, wenigstens nicht in dem Maße, um die Hämolyse zu verhindern, blieb noch übrig, die Wirkung der Lösungen auf reines Komplement zu prüfen, das durch Entfernung des Zwischenkörpers vom Serum durch Absorptionsexperimente bei niedrigen Temperaturen erhalten worden war. Die in Tabelle III dargelegten Ergebnisse dieser Prüfungen zeigen, daß die Salzlösungen die Hämolyse mittels ihrer Wirkung auf das Komplement aufheben (siehe Tabelle III).

Auf dieselbe Weise heben sie anscheinend auch die Bakteriolyse der Typhusbacillen durch menschliches Serum auf, und ich habe gleichfalls gefunden, daß sie die Fähigkeit vom Kaninchenserum, Hundeserum für Anthraxbacillen bakterizid zu machen, zerstörten. Bail und Pettersson¹⁾ zeigen, daß bei der Wechselwirkung dieser beiden Sera das Hundeserum Ambozeptoren liefert, die durch Komplemente im Kaninchenserum aktiviert werden.

Betreffs der Art und Weise, in der die Salze auf das Komplement wirken, kann man noch nichts recht Bestimmtes sagen. Die Tatsache, daß die den verschiedenen in Tabelle III angegebenen Prozeduren unterworfenen Blutkörperchen nach wiederholtem Waschen mit Natriumchlorid schnelle Hämolyse erleiden, wenn frisches Komplement zugesetzt wird, zeigt unzweideutig, daß keine Verbindung zwischen den sensibilisierten Blutkörperchen und dem der Wirkung der Salze ausgesetzten Komplement stattgefunden hat, da die komplementophilen Gruppen der Zwischenkörper noch unbefriedigt sind. Daher kann man höchstens sagen, daß diese Salze das Komplement nicht in ein Komplementoid verwandeln, d. h. die toxische Wirkung zerstören, sondern die haptophoren Gruppen intakt lassen.

Ob das Komplement tiefergehende Wandlungen als Zerstörung oder Veränderung seiner haptophoren Gruppen erleiden kann, wenn es gewissen Salzen ausgesetzt wird, kann gegenwärtig noch nicht entschieden werden. Insofern die bei diesen Experimenten verwandten Lösungen Lösungen von Elektrolyten einer solchen Verdünnung sind, daß Dissoziation wahrscheinlich stattgefunden hat, ist die resultierende Wirkung möglicherweise das Erzeugnis gewisser Ionen. Bei CaCl₂, BaCl₂ und SrCl₂ würde dann die Wirkung den Ca-, Ba- und Sr-Ionen zuzuschreiben sein, weil die Cl-Ionen keinen zerstörenden Einfluß auf das Komplement zu haben scheinen, wie der allgemeine Gebrauch von NaCl-Lösung bei Serumexperimenten bezeugt.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1903.

Tabelle III. Es zeigt sich, daß gewisse Salzlösungen das bei der Auflösung von Blutkörperchen des Kaninchens durch menschliches Serum beteiligte Komplement zerstören oder verändern.

gm 8	Lösung von CaCl ₂	. 4	ccm	+ Kompl.	. 2 ccm.	Nach 1 1/2 Std.	Zusatz von sensibil. Blutkörperchen	= keine Hämolyse
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	BaCl ₂	. 4	"	+	. 2	"	"	Spur keine Hämolyse
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	SrCl ₂	. 4	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	MgSO ₄	. 4	"	+	. 2	"	"	Spur
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	MgSO ₄	. 4	"	+	. 2	"	"	keine Hämolyse
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	K ₂ SO ₄	. 4	"	+	. 2	"	"	keine Hämolyse
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	NaCl	. 4	"	+	. 2	"	"	Spur ausgesprochene Hämolyse
"	"	. 2	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 1	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.5	"	+	. 2	"	"	"
"	"	. 0.25	"	+	. 2	"	"	"
"	Gewaschene Blutkörperchen von Kaninchenblut		"	+	. 2	"	"	keine Hämolyse.

Bei K_2SO_4 und $MgSO_4$ sind die SO_4 -Ionen augenscheinlich wirksam, da KCl z. B. ziemlich dieselbe Wirkung beim Bewahren von lytischem Serum hat wie $NaCl$. Experimente mit $MgCl_2$ zeigen, daß die Mg -Ionen dieselbe Wirkung wie Ca , Ba und Sr haben, wenn gleich schwächer. Konkret ausgedrückt, zeigen die Resultate dieser und anderer Experimente, daß $CaCl_2$, $BaCl_2$, $SrCl_2$, $MgSO_4$, K_2SO_4 und andere ionisierbare Salze, wenn man sie dem menschlichen Serum zusetzt, das bei der Lysis der Blutkörperchen vom Kaninchen und Typhusbacillen beteiligte Komplement zerstören oder unwirksam machen können. Wieweit dieser Schluß auf Komplemente im allgemeinen auszudehnen ist, ferner, das in ähnlicher Richtung gehende Studium der Wirkungen anderer Substanzen auf die bei der Cytolyse beteiligten Elemente, endlich, ob es möglich ist, auf die Verminderung oder Aufhebung der hämolytischen und ähnlichen Eigenschaften des Blutes durch Injektionen von Lösungen einzuwirken, die Komplemente *in vitro* zerstören, alles dies sind interessante und wichtige Probleme, deren Lösung bereits in Angriff genommen ist.

Die Tatsache, daß Stoffe, die normalerweise im Plasma vorhanden sind, die Wirkung von Komplementen des menschlichen Serums aufheben können, macht es wahrscheinlich, daß die Resultate von in dieser Richtung unternommenen Arbeiten bedeutsamen Einfluß auf gewisse Phasen der Infektion und die Reaktionen der Immunität haben können.

Nachdruck verboten.

Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben.

[Laboratorium der allgemeinen Pathologie, Ferrara.]

Von Prof. Eugenio Centanni.

(Schluß.)

c) Ein anderer, nicht weniger bedeutender Faktor der Mißerfolge liegt in der Gerinnung des Blutes selbst. Die Blutkörperchen enthalten, wie andere Zellen, die präzipitable Cytosubstanz. In den vorhergehenden Mitteilungen habe ich im Gegensatz zu Nolf nachgewiesen, daß die Behandlung mit Blutkörperchenextrakt Cytopräzipitine erzeugen kann, wie dies jetzt von Klein bestätigt wird. In den cytopräzipitierenden Seris kann man einen Niederschlag hervorrufen und sie erschöpfen, außer durch Extrakt von Gewebszellen, auch durch Gerinnselstückchen oder durch Extrakt von zerschnittenem Gerinnsel, durch Schütteln von Blutkörperchen defibrinierten Blutes, durch Zusatz von einige Zeit lang in Berührung mit dem Gerinnsel gelassenem Serum. In gleicher Weise wirken die Blutzellen einer anderen Rasse, da man das Hundeserum durch Blutzellen vom Schaf, Kaninchen und Huhn unwirksam machen kann. Daß die Blutzellen auch die Antikörper der verschiedenen Organe binden können, ist eine wohlbekannte Tatsache bei den Berührungsproben, die jetzt im großen Maße für die cytotoxischen Sera angewendet werden; und diese Gemeinsamkeit eines Teiles der Rezeptoren zwischen

Blutkörperchen und Gewebezellen ist so regelmäßig, daß Ehrlich den Blutkörperchen die Funktion von allgemeinen Trägern der verschiedenen Nahrungsmoleküle zuschreibt.

Wenn man das Serum zu spät von dem Gerinnsel entfernt, wird dasselbe schließlich unwirksam; während bei der Mischintoxikation das getrennte Serum länger als zwei Monate wirksam blieb, wurde ein bei dem Gerinnsel gelassener Teil schon am 12. Tage unwirksam gefunden. Ebenso gab beim Chromatserum ein Teil des zur Defibrinierung lange mit Glassplittern geschüttelten Blutes ein unwirksames Serum. In den Fällen, wo das Cytopräzipitin reichlich ist, wie bei der Tuberkulose und der Mischintoxikation, blieb des Serum gut wirksam, auch wenn es mehr als 24 Stunden nach der Blutgerinnung vom Gerinnsel abgehoben wurde.

Die Trennung des Serums von dem Gerinnsel sofort nach dessen Bildung sichert nicht die Aufbewahrung der kleineren Präzipitinnengen, da man von der Gerinnungslehre her, die durch die neueren Untersuchungen von Delezenne über das von Natur aus ungerinnbare, von den Blutzellen befreite Plasma der Vögel und der Reptilien gestützt wird, weiß, daß Produkte der Auflösung und Ausschwitzung der Blutzellen während der Gerinnung in das Plasma eindringen. Daher habe ich einige Versuche angestellt, um das Blut ungerinnbar zu machen und die Blutzellen rasch zu entfernen.

Wir haben schon gesehen, daß die gewöhnlichen antikoagulierenden Mittel gleichzeitig antipräzipitierend sind, und wenn sie mittels der Dialyse eliminiert werden, tritt, wie man bei der Anwendung des Magnesiumsulfats beobachten kann, schon im Dialysator ein voluminöses Gerinnsel auf, weil das Salz, wenn es die Gerinnung verhindert hat, nicht verhinderte, daß ein Teil der Blutkörperchen diffundiert. Noch deutlicher ist die Erscheinung beim Ammoniumsulfat, welches bei $\frac{1}{4}$ der gesättigten Lösung, während es antikoagulierend ist, auch lytisch wirkt.

Das durch Zentrifugierung aus verschiedenen paraffinierten Proben gesammelte Plasma gerinnt spontan nach nicht langer Zeit. Das Serum, welches von dem nicht gefärbten Gerinnsel eines solchen Plasmas sich abscheidet, ist jedoch wirksamer, als dasjenige, welches aus dem ganzen Blute austritt. Dies hat sich bei der Blutprobe, die am 65. Tage dem Chromathunde entnommen wurde, herausgestellt, dessen aus dem paraffinierten Plasma ausgeschiedenes Serum in erheblichem Maße Nephropräzipitin lieferte, während es im Serum der spontanen Gerinnung bloß spurweise vorhanden war. Es ist merkwürdig, daß bei der ähnlichen Bereitung des paraffinierten Plasmas eines normalen Hundes auch ein deutliches Präzipitin mit Nierenextrakt erzielt wird, was besagt, daß die vorliegende Substanzenreihe durch geeignete Methoden sich auch als physiologischer Bestandteil des Blutes erweist.

d) Auch die Eigenschaften der präzipitablen Cytosubstanz der Gewebe tragen nicht wenig dazu bei, die nötige Feinheit der Reaktion zu beeinträchtigen. Wir haben die geringe Löslichkeit des wirksamen Prinzipes gesehen, die dazu zwingt, zentrifugierte, opaleszierende Auszüge zu benutzen; dadurch wird der Ausfall sehr deutlich im Falle der Bildung eines Blockes oder reichlicher Flocken, nicht so aber im Falle von ersten Andeutungen der Fällung, wo man das raschere Sedimentieren der Opaleszenz als maßgebend betrachten muß, welche Opaleszenz während der gleichen Zeit in den Kontrollversuchen gleichmäßig verteilt bleibt. Da noch dazu Moleküle verschiedener Art in dem unlös-

lichen Klümpchen angesammelt sind, ist es nicht möglich, für jedes einzelne derselben fraktionierte Isolierungsfälle auszuführen.

Wenn ferner Erschöpfungsproben eines Serums angestellt werden, indem man wiederholt Gewebsextrakt zusetzt, damit die Fällung aufhört, und wenn die Prüfung für mehrere solcher Extrakte nacheinander wiederholt wird, so kommt eine für die Fällung immer ungünstigere Bedingung zu stande, da das Verhältnis der präzipitablen Substanz zum Präzipitin immer mehr erhöht wird, und zwar durch ein größtenteils aus Globulinen dargestelltes Material, welche Globuline mehr als die Albumine die Fällung verhindern (Rostowski). Daher können wir den Versuchen mit fraktionierter Fällung nur geringen Wert beimessen, welche in der jetzt möglichen summarischen Weise ausgeführt werden, um bei den Mischungen die Gegenwart spezifischer Antikörper nachzuweisen.

Eine andere Tatsache ist die, daß, wenn das Extrakt eines Organes bereitet wird, um als Reagens für das Serum desselben Tieres zu dienen, das Organ sich schon im Organismus in Gegenwart des Serums befunden hat, und es außerdem während des Zerschneidens nicht vermieden werden kann, daß das Zellprodukt dem Einfluß des Serums und der Säfte unterliegt, welche unvermeidlich in dem Organe zurückgeblieben sind. In einem solchen Falle kann die präzipitabile Substanz des Gewebes mit dem wirksamen Prinzip des Serums sich vollständig verbinden und auf diese Weise jeden Reagenswert verlieren, so daß dann bei der Prüfung, da eines der Reagentien fehlt, der Erfolg negativ ausfallen muß, wenn auch in dem untersuchten Serum das gesuchte Präzipitin vorhanden ist.

Daß präzipitierende Reaktionen in der Emulsion erkrankter Organe spontan vorkommen, davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man eine Emulsion von gleichem Gewichte von einem gesunden und einem erkrankten Organe macht; die Röhre, welche die Emulsion dieses letzteren enthält, gibt regelmäßig eine höhere, manchmal viel höhere Niederschlagsäule, als die Röhre der normalen Emulsion.

Ich habe die spontane Reaktion während des Zerschneidens dadurch zu vermeiden gesucht, daß ich zuerst das Organ einer Temperatur von 53° aussetzte, bei der, wie wir gesehen haben, das Präzipitin zerstört wird und die ausfällbare Substanz nicht leidet. Mit dem in dieser Weise bereiteten Extrakte habe ich niemals einen vorher negativen Ausfall in einen positiven übergehen sehen. Durch diese Behandlung ist aber das Präzipitin nicht gänzlich beseitigt, da wir wissen, daß die Abschwächung der Präzipitine den haptophoren Teil des Moleküls (Präzipitoid) unversehrt läßt (Müller, Eisenberg, Centanni), welcher gleichfalls den Rezeptor der präzipitablen Substanz zu sättigen vermag.

§ S c h l u ß s ä t z e.

Die Autocytopräzipitine sind die Produkte, welche reagieren, wenn das Serum und das Extrakt eigener Gewebe bei den Organismen gemischt werden, welche von pathologischer Resorption derselben Gewebe betroffen sind. Sie wurden im Serum des Menschen, des Hundes, des Kaninchens aufgesucht, welche von akuten und chronischen, durch verschiedene Agentien erzeugten Krankheitsformen heimgesucht waren (Tuberkulose, Diphtherietoxin, Ammoniumchromat, Kantharidin, Injektion von Nierenemulsion). Die Reaktion ist in einem Teil der Fälle positiv ausgefallen und hat den höchsten Wirksamkeitsgrad bei einigen Formen von langsamem Verlauf bei Menschen und bei Tieren erreicht.

Die präzipitierenden Produkte, welche sich durch innere Reaktionen im Verlauf der Krankheit entwickelten, sind von vielfachem Charakter; bei ihnen herrscht an Reichtum und Häufigkeit eine Form vor, der eine intermediäre Stellung zwischen den heterologen, gewöhnlich untersuchten Präzipitinen und der physiologischen Fibrinbildung zukommt, da sie teils der einen, teils der anderen Art zugehörnde Eigenschaften nebst einigen anderen speziellen besitzt.

Gemeinsam mit den heterologen Präzipitinen sind das flockige Aussehen des Niederschlages, die chemische Eigenart, mit der Weigert'schen Methode für das Fibrin nicht zu reagieren, das bis zu einem gewissen Grad der Menge der Reagentien proportionale Fällungsvermögen, die Unfähigkeit des Moleküls, nach der Abschwächung wieder wirksam zu werden. Mit den Fibrinelementen gemeinsam sind die Nichtspezifizität, da es von Zellenextrakten verschiedener Herkunft gefällt wird, die dem Fibrin vergleichbare Unlöslichkeit des Niederschlages, die dem Fibrinogen entsprechende Fällungsgrenze mit neutralen Salzen, dieselbe Empfindlichkeit gegen die antikoagulierenden Substanzen. In ausgesprochenem Maße eigentümliche Charaktere stellen dar das teilweise Fällen durch einfache Verdünnung in physiologischer Lösung, das Unwirksamwerden des Serumpräzipitins um 50° ohne Andeutung von Gerinnung auch bei höherer Temperatur, die Widerstandsfähigkeit der präzipitablen Substanz der Gewebe über 70°, die Schwierigkeit der Reagentien, sich zu lösen und die porösen Kerzen zu durchdringen, eine gewisse Toleranz gegen ein saures und alkalisches Medium, in dem die Reaktion stattfindet, die Schwierigkeit, das Serumpräzipitin nach der Fällung und auch bloß ausgetrocknet wieder zu lösen, die Empfindlichkeit gegen die gewöhnlichen antiseptischen Mittel, das Nichtwiederauftreten eines der Komponenten, wenn der Niederschlag der Hitze oder der Verdauung ausgesetzt wird.

Es wurden auch einige Nebenfragen erforscht. Die Veränderungen der Blutgerinnbarkeit, welche die Gegenwart des Cytopräzipitins begleiten, sind: die häufige Verspätung der Gerinnung, die geringe Zusammenschrumpfbarkeit der Gerinnsel in Beziehung zum wenig zusammenschrumpfbaren gemischten Cytopräzipitat, die Wiedegerinnung in successiven Perioden des von dem Gerinnsel abgeschiedenen Serums. Von den Bedingungen, welche den Teil der Fälle mit negativem Ausfall erklären, werden einer Betrachtung unterzogen: die Schwierigkeit der Bildung wegen der Unfähigkeit des Organismus zu reagieren, weil die erregenden Prinzipie entweder spärlich oder schon gespalten resorbiert werden (Autolyse), das Reagieren von Präzipitin und präzipitabler Substanz, wenn sie im Organismus oder während der Gerinnung und der Extraktzubereitung sich begegnen, die technischen Fehler der elektiven fraktionierten Fällung.

Der Mangel an Spezifität ist die differentielle Haupteigenschaft dieser Autocytopräzipitine gegenüber den gewöhnlichen Heteropräzipitinen; neben ihnen kann man jedoch das Vorhandensein von anderen nachweisen, die mit Spezifitätscharakter für Organ, für Rasse und für pathologische Veränderung begabt sind, in so wenig ausgesprochener Menge aber, daß die präzipitierende Reaktion vorläufig nicht als diagnostische Methode anwendbar erscheint, um den Sitz und die Natur des Krankheitsprozesses zu erkennen.

Das Studium bietet trotzdem manches Interesse dar in verschiedenen Beziehungen:

1) Es beleuchtet einige Punkte der inneren Reaktionen, welche zwischen den verschiedenen gesunden und kranken Organen während der Krankheit stattfinden, und weist nach, daß die resorbierten pathologischen Gewebe als fremde Prinzipie (sekundäre Gifte des Verf.) funktionieren, nicht anders wie die heterogenen Gewebe, und als solche die Bildung von Verteidigungsantikörpern befördern.

2) Bei den festen Ablagerungen, welche das Blut während der Krankheiten in den Blutgefäßen oder in den erkrankten Teilen hervorruft, muß man den schon bekannten in Form von Fibrinthromben und Blutplättchenagglutinerung noch eine dritte Varietät hinzufügen, welche von den mit speziellen Eigenschaften versehenen Autocytopräzipitaten bedingt wird.

3) Die Entdeckung eines Produktes, welches einen Verbindungsring zwischen den Heterocytopräzipitinen aus Impfung und dem physiologischen Fibrin darstellt, führt uns zur Erkenntnis einer kontinuierlichen Abstufung bei der Reaktionsweise des Organismus auf die Gewebsresorption, indem man die Fibrinbildung als Reaktion auf die Produkte des physiologischen Stoffwechsels der eigenen normalen Organe, die Autocytopräzipitine als Reaktion auf die Resorption der eigenen, von der Erkrankung veränderten Organe, die Heteropräzipitine als Reaktion auf fremde Prinzipie betrachten kann. So wird bestätigt, daß es keine Kontinuitätstrennung zwischen den Reaktionen auf physiologische Reizungen und denjenigen auf pathologische Reizungen gibt, und daß die von der künstlichen Immunität aufgedeckten Tatsachen nichts anderes sind, als die Entwicklung und die Uebertreibung von normalerweise existierenden Elementarfunktionen.

Bibliographie.

- Ascoli, M., Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung und der Eiweißkörper des Bluteserums. (Münch. med. Woch. 1902. No. 34.) — Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. (Münch. med. Woch. 1903. No. 5.)
- Belfanti und Carbone, Beitrag zur Kenntnis des Diphtherieantitoxins. (Arch. p. I. Sc. med. 1898.)
- Bordet, Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytotoxiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur, mai 1900.)
- Calmette, Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur, avril 1895.)
- Centanni, Das Cytopräzipitin und sein diagnostischer Wert. I. Mitteilung. Richtung der Untersuchungen. (Rif. med. Vol. IV. 1901.) II. Mitt. Ueber die Diffusion der Cytopräzipitine. (Ebenda. Vol. I. 1902.) — Ueber die Stomosine. IV. Mitt. Die Vaccination in vitro. (Ebenda. Vol. III. 1902.)
- Conradi, Ueber die Beziehung der Autolyse zur Blutgerinnung. (Hofmeisters Beiträge. Bd. I. 1901—1902.)
- Delezenne, Préparation d'un plasma pur et stable par simple centrifugation du sang d'oiseaux. (Soc. de biol. 1896.)
- Dieudonné, Ergebnisse der Sammelforschung über das Diphtherieheilserum. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamt. 1897.)
- d'Ormea, Reaktionen des Pellagrablutes auf das fremde Blut und auf das Plasma der eigenen Gewebe. (Rif. med. Vol. I. 1902.)
- Eisenberg und Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Wien. klin. Woch. 1901 No. 50. — Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. LX.)
- Eisenberg, Untersuchungen über spezifische Präzipitationsvorgänge. (Cbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. XXXI. 1902.)
- Formánek, Ueber die Einwirkung von Chloroform und Chloralhydrat auf den Blutfarbstoff. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XXIX. 1900.)
- Freund und Sternberg, Ueber Darstellung des Heilkörpers aus dem Diphtherieheilserum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXI.)
- Fuhrmann, Ueber Präzipitine und Lysine. (Hofmeisters Beitr. Bd. III. 1902.)

- Fuld, Ueber das Bordetsche Laktoserum. (Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1902 und Bd. III. 1903.)
- Gley, Défaut de rétractilité du caillot sanguin dans quelques conditions experimentales. (Soc. d. biol. 1898. p. 1075.)
- Hamburger, Biologisches über die Eiweißkörper der Kuhmilch und über Säuglingsernährung. (Wien. klin. Woch. 1901, p. 1202.)
- Hayem, Du caillot non rétractile: suppression de la formation du sérum sanguin dans quelques états pathologiques. (C. r. de l'Ac. d. sc., nov. 1896. Soc. méd. d. hôp., fév. 1903.)
- Jacoby, Ueber Ricin-Immunität. (Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1901—1902.)
- Klein, Wien. klin. Wochenschr. 1893, No. 5 u. 6.
- Kowarski, Ueber den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. (Dtsch. med. Woch., 1901. No. 27.)
- Krüger, Ueber die Einwirkung von Chloroform auf Hämoglobin. (Hofmeisters Beitr. Bd. III. 1902.)
- Lamb, On the precipitin of cobra venom: a means of distinguishing between the proteids of different snake poisons. (Lancet. Aug. 1902.)
- Landsteiner und Calvo, Zur Kenntnis der Reaktion der normalen Pferdeserums. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Bd. XXXI. 1902.)
- Leblanc, Contribution à l'étude de l'immunité acquise. (La Cellule. T. XVIII. 1901.)
- Linossier et Lemoine, Sur les substances précipitantes des albumines (précipitines) contenues dans certains sérums spécifiques. (Soc. d. biol. 1902, p. 85.)
- Michaëlis, Untersuchungen über Eiweißpräzipitine (Dtsch. med. Woch. 1902. No. 41.)
- Mirto, Ueber den Wert der biologischen Methode für die spezifische Diagnose des Blutes bei den verschiedenen Anforderungen der Praxis. (Rif. med. Vol. III. 1901.)
- Moro, Biologische Beziehungen zwischen Milch und Serum. (Wien. klin. Woch. 1901, p. 1074.)
- Müller, Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab- und Laktoserum. (Münch. med. Woch. 1902. No. 7.)
- Myers, Ueber Immunität gegen Proteide. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Bd. XXVIII. 1900.)
- Nolf, Contribution à l'étude des sérums antihématiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. mai 1900.)
- Obermeyer und Pick, Biologische u. chemische Studien über das Eiklar. (Wien. klin. Rundsch. 1902. No. 15.)
- Oppenheimer und Michaëlis, Mitteilungen über Eiweißpräzipitine. (Phys. Gesellsch. z. Berlin. Juli 1902.)
- Pick, Zur Kenntnis der Immunkörper. II. Mitt. (Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1901—1902.)
- Rostowski, Ueber den Wert der Präzipitine als Unterscheidungsmittel für Eiweißkörper. (Münch. med. Woch. 1902. No. 18.)
- Salkowski, Ueber die eiweißfällende Wirkung des Chloroforms. (Zeitsch. f. phys. Chemie. Bd. XXXI. 1900.)
- Schütze, Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweißarten auf biologischem Wege. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXVIII. 1901.)
- Seng, Ueber die qualitativen und quantitativen Verhältnisse der Eiweißkörper im Diphtherieheiserum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. III. p. 513.)
- Tschistowisch, Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.)
- Uhlenhuth, Eine Methode zur Untersuchung der verschiedenen Blutarten u. s. w. (Dtsch. med. Woch. 1901. No. 6.)
- Wassermann, Experimentelle Beiträge zur Serumtherapie vermittelt antitoxisch und bakterizid wirksamer Serumarten. (Dtsch. med. Woch. 1897. No. 17.)
- Wolf, Ueber den Gehalt der einzelnen Eiweißfraktionen des Serums. (Globuline, Euglobuline, Albumine etc.) an Choleraimmunkörpern. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Bd. XXXIII. 1903.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Erfahrungen über Lepraempfindungen bei Tieren

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu Moskau.]

Von **W. J. Kedrowski.**

Die Frage über Lepraempfindungen bei Tieren ist bisher eine offene geblieben. Impfungen, die einem Teile der Untersucher gelangen, werden von dem anderen Teile bestritten und geleugnet. Die Beobachtungen von Damsch, Neisser, Vossius, Teich u. a. können nicht als überzeugend betrachtet werden, da es sich in denselben um eine lokale Vermehrung der überimpften Bacillen im Körper der Versuchstiere handelte; das den Schlußfolgerungen der angeführten Untersucher hinsichtlich der Möglichkeit von Lepraüberimpfungen zu Grunde gelegte Kriterium kann nicht als genügend angesprochen werden. Die klassischen Beobachtungen von Melcher und Ortman¹⁾, in welchen es sich bereits um eine Vermehrung der Bakterien in allen Organen der Versuchstiere handelte, befriedigten trotzdem augenscheinlich nur wenig. Das von diesen bei den Versuchstieren erhaltene Bild erwies sich als sehr ähnlich dem Bilde einer Miliartuberkulose, so daß einige Autoren die Vermutung aussprachen, daß hier in Wirklichkeit eine zufällige Infektion mit Tuberkulose bei der Impfung stattgefunden hätte, während die Infektion mit Lepra ausgeblieben wäre. Andere Verfasser dagegen waren überzeugt, daß Melcher und Ortman es in ihren Versuchen nicht mit einer Infektion im strengen Sinne des Wortes, d. h. nicht mit einer Vermehrung der überimpften Bacillen im Körper der Tiere, sondern nur mit einer Verschleppung derselben durch den Blut- und Lymphstrom in von der Impfstelle entfernte Organe und Gewebe zu tun hatten. Zur Unterstützung dieser seiner Meinung hat Campana eine Reihe von Kontrolluntersuchungen mit Ueberimpfung von leprösem Material angestellt, dessen Bacillen, wie a priori zu erwarten stand, ihre Lebensfähigkeit bereits eingebüßt hatten. Zu diesen Zwecken dienten Hautstücke, die längere Zeit der Austrocknung ausgesetzt waren, lange Zeit in Spiritus aufbewahrt waren oder sogar schon gefärbt waren etc. Bei diesen Versuchen erhielt Campana nun Resultate, die sich seiner Meinung nach mit den Beobachtungen von Melcher und Ortman deckten. Gleiche Resultate erzielte in letzter Zeit Iwanoff²⁾ im Laboratorium von Metschnikoff (Institut Pasteur). Es erübrigt noch, hinzuzufügen, daß einige Untersucher die Melcher-Ortmannschen Versuche wiederholten und nur negative Resultate erzielten.

Diese Vielgestaltigkeit in den Beobachtungen und Anschauungen ist zweifelsohne darauf zurückzuführen, daß alle Autoren, die sich mit der Frage der Lepraempfindungen beschäftigten, gezwungen waren, ein Material zu benutzen, das direkt von den Kranken stammte, also ein Material, das Bakterien enthielt, deren biologische Eigenschaften bisher sehr wenig erforscht waren. Die zahlreichen Versuche, aus solchem Material eine näher bestimmte biologische Einheit zu erzielen, d. h.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1885 u. 1886.

2) Annales de l'Institut Pasteur. 1903.

durch künstliche Kultur die Leprabacillen auszusondern, blieben zum größten Teil erfolglos. Bordini-Uffreduzzi erhielt zwar im Jahre 1887 aus leprösem Material eine sehr interessante Kultur von Bacillen, die alle morphologischen Charaktere der Leprabacillen aufwiesen, doch leider blieben Impfversuche mit denselben an Tieren resultatlos. Augenscheinlich ergaben auch die Impfversuche anderer Forscher, wie Babes, Spronck, Levy, Czaplewski etc., denen gleichfalls die Herstellung von Leprareinkulturen gelang (wenngleich dieselben auch etwas andere Eigenschaften als die Bordini-Uffreduzzi'schen aufwiesen), keine sicheren Resultate. Nur Barannikow¹⁾ teilt mit, daß es ihm gelungen sei, bei Impfung mit künstlicher Leprakultur im Auge eines Kaninchens einen Pannus leprosus zu erzeugen, wobei sich die überimpften Bacillen mit geringer Säurebeständigkeit in solche mit größerer Säurebeständigkeit verwandelten. Leider sind diese Versuche nur in Form einer sehr kurzen Bemerkung veröffentlicht und können deshalb trotz ihres Interesses keine endgültige Bedeutung beanspruchen. Deswegen möchte ich die Versuche, von welchen die Rede sein wird, als die ersten bezeichnen, welche die Frage über die Ueberimpfbarkeit der Lepra auf Tiere lösen.

Im Jahre 1901 veröffentlichte ich meine Beobachtungen über die künstliche Kultur des Lepraerregers²⁾. Diese Kulturen benutzte ich nun zu meinen Impfversuchen. Der erste Versuch bestand in folgendem: Bei 2 Kaninchen, jedes im Gewicht von etwa 1000 g, wurde am 24. Juli 1900 die Trepanation gemacht. Eine Woche später, als die Hautwunde verheilt war, wurde beiden Kaninchen durch die Trepanationsöffnung direkt ins Gehirn eine Kultur von Leprabacillen eingespritzt, die kurz vordem aus dem Hautknoten eines Leprakranken gewonnen war. Die Kultur bestand aus langen, sich Actinomyces-artig verzweigenden Fäden, die ihre Säurebeständigkeit eingebüßt hatten³⁾.

Das eine Kaninchen ging schon am nächsten Tage unter Erscheinungen von Gehirnreizung (Hyperämie) zu Grunde. Das andere erschien zwar mehrere Tage schwer krank, erholte sich jedoch allmählich und lebte, an Gewicht zunehmend, ein ganzes Jahr bis zum Anfang des nächsten April, ohne irgend welche Zeichen von Erkrankung zu zeigen. Im April wurde die Impfung wiederholt und zwar mit derselben Kultur, die in der Sammlung des Moskauer Institutes aufbewahrt und von Zeit zu Zeit überimpft wurde. Da die Trepanationsöffnung verwachsen war, wurde die Einspritzung in die Bauchhöhle vorgenommen. Etwa 1/2 Jahr nach dieser zweiten Impfung (folglich 1 1/2 Jahre nach der ersten) trat Anfang November 1901 eine Parese, späterhin eine Paralyse zuerst der einen, danach der anderen hinteren Extremität ein. Das Kaninchen magerte ab und wurde wegen der Störungen in den Funktionen der Beckenorgane äußerst unsauber. Da ich Dekubitusbildung und infolgedessen sekundäre Infektion befürchtete, so tötete ich das Kaninchen am 21. November 1901 und unterwarf die Organe desselben einer sorgfältigen mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung.

Bei der Obduktion fanden sich die hauptsächlichsten Veränderungen im Rückenmark und im Blinddarmfortsatz vor: 1) Die weiche Rückenmarkshaut erwies sich als hyperämisch und verdickt, besonders

1) Wratsch. 1900. Vortrag in der medizinischen Gesellschaft zu Charkow.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.

3) Diese Kultur wurde von mir aus dem Leprafall 3 (Taf. II, Fig. 3) hergestellt. Dem Kaninchen wurde die zweite Generation eingespritzt, die keine säurebeständigen Formen aufwies.

im Lendenabschnitte; 2) unter der Serosa des Blinddarmfortsatzes wurde eine beträchtliche Menge von gelblichweißen knötchenförmigen Bildungen angetroffen, von runder Form und höchstens von Stecknadelkopfgröße, welche große Aehnlichkeit mit Tuberkelknötchen aufwiesen. — In den übrigen Organen waren keine mit bloßem Auge wahrzunehmende Veränderungen zu bemerken. Die Trepanationsöffnung war vollständig verwachsen; in der Umgebung derselben sowie an der Impfstelle überhaupt, in der Haut wie in der Hirnsubstanz waren keinerlei Veränderungen vorhanden. Die mikroskopische Untersuchung ergab folgendes:

1) Die weiche Rückenmarkshaut ist beträchtlich verdickt und zugleich auffallend in ihrer Struktur verändert: Dieselbe besteht beinahe ganz aus Zellen epitheloiden Charakters von unregelmäßig rundlicher Gestalt mit bläschenförmigen Kernen, welche reichlich Bacillen enthalten, die in Form und Färbung vollständig mit den Leprabacillen beim Menschen übereinstimmen. Die Bacillen sind stellenweise in solcher Anzahl vorhanden, daß sich die Kerne nur mit Mühe unterscheiden lassen. In einer großen Anzahl von Präparaten konnte ich kaum ein paar Riesenzellen entdecken, mit höchstens 3—4 Zellkernen.

2) Die Veränderungen im Blinddarmfortsatz betreffen hauptsächlich den Follikelapparat, der ja, wie bekannt, beim Kaninchen stark entwickelt ist; die lymphoiden Zellen der Follikel werden allmählich durch epitheloide ersetzt, so daß ein einem Epitheloidtuberkel äußerst ähnliches Gebilde resultiert, z. B. der Milz oder einer Lymphdrüse. Diese Aehnlichkeit wird noch dadurch vermehrt, daß die älteren von diesen Gebilden im Zentrum Zerfall und käsige Degeneration aufweisen. In den jüngeren Knötchen sind wenig Bacillen vorhanden, in den älteren sind sie reichlicher anzutreffen und zudem hauptsächlich in dem Innern der Zellen. Große mehrkernige Zellen (Riesenzellen) aufzufinden, ist mir bis jetzt nicht gelungen.

3) In der Leber und den Nieren sind ebensolche knötchenförmige, aus Epitheloidzellen aufgebaute Gebilde anzutreffen, welche dem bloßen Auge unsichtbar blieben; käsige Degeneration fehlt hier und Bacillen lassen sich nur spärlich (nicht mehr wie 1—2 in einem Knötchen) nachweisen.

Bei der Obduktion wurde aus den verschiedenen Organen des Kaninchens eine große Anzahl von Kulturen angelegt auf dem künstlichen Nährboden von Wassermann und auf dem von mir vorgeschlagenen Nährboden (Placentarinfus). Die Impfungen wurden vorgenommen aus der Leber, den Nieren, aus dem Blute, das mit steriler Pipette aus dem Herzen entnommen wurde, und aus dem Knochenmark. Hierbei erwies sich nun folgendes:

1) In 2 Reagenzgläsern, welche mit Blut beschickt waren, wuchsen am 3. und 4. Tage einige üppige Kolonien von leicht schleimiger und zäher Natur, welche aus Stäbchen bestanden, die morphologisch Aehnlichkeit mit Leprabacillen aufwiesen, sich jedoch bei der Färbung nach Ziehl-Neelsen entfärbten. Bei weiteren Ueberimpfungen zeigten die Stäbchen große Neigung zu Verästelungen. — Ebensolche Kulturen wuchsen, nur etwas später, in den 2 Reagenzgläsern, von denen eines mit Gewebssaft der Niere, das andere der Leber beschickt worden waren. Mit diesen Kulturen wurden von neuem Kaninchen infiziert teils durch eine Trepanationsöffnung ins Gehirn, teils durch eine Ohrvene ins Blut: Zwei von diesen Kaninchen gingen bald an Reizung der Hirnhäute (bei Impfung ins Gehirn) zu Grunde; die übrigen leben bis heute.

2) Von den übrigen beschickten Reagenzgläsern ergaben einige gar kein Wachstum im Verlaufe einer beträchtlichen Zeit, während in einem, das mit Knochenmark geimpft worden war, etwa nach einem Monat mehrere kleine, rundliche Kolonien wuchsen, knötchenförmig erhaben und von gräulicher Farbe, die Stecknadelkopf- bis Linsenkorngröße erreichten. Bei der Untersuchung erwies es sich, daß diese Kolonien aus dünnen Stäbchen bestanden, die sich bei der Färbung nach Ziehl-Neelsen nicht entfärbten und der Form nach äußerst den sogenannten Leprabacillen ähnelten. Nach Verlauf von weiteren 2 Wochen waren ebensolche, nur noch kleinere Kolonien auf dem mit Lebersaft beschickten Nährboden wahrzunehmen. Einige Zeit wuchsen diese Kolonien noch und vergrößerten sich, dann stand das Wachstum still und die Größe veränderte sich nicht mehr. Ueberimpfungen ergaben üppiges Wachstum. — Tierversuche mit diesen säurebeständigen Bacillen ergaben in hohem Grade interessante Resultate:

1) Bei Impfung ins Blut durch die Ohrvene gingen die Kaninchen nach $1\frac{1}{2}$ —2 Monaten unter starker Milzvergrößerung (10—15mal gegenüber dem gewöhnlichen) und reichlichen Blutungen in ihr Gewebe zu Grunde; bei der mikroskopischen Untersuchung ließ sich in den inneren Organen eine beträchtliche Vermehrung des Gefäßendothels feststellen bis zur Bildung von großen, mehrkernigen Zellen, welche mit einer großen Anzahl von säurebeständigen Bacillen angefüllt waren.

2) Bei Einführung in den Augapfel (in die vordere Kammer und den Glaskörper) gingen die Tiere nach $2\frac{1}{2}$ —3 Monaten ein unter Bildung einer Unzahl von kleinen Knötchen in den inneren Organen, an den serösen Häuten und sogar im Unterhautzellgewebe; es resultierte ein der disseminierten Miliartuberkulose äußerst ähnliches Bild.

3) Ein sehr ähnliches Bild wurde erhalten bei Einspritzen der Bacillen in die Bauchhöhle und Einreiben derselben in die Nasenschleimhaut.

4) In einem Falle wurde eine Einreibung in die leicht lädierte Haut am Rücken (leichte Abschürfungen und Verletzungen beim Rasieren der Haare) vorgenommen. In kurzer Zeit bildeten sich derbe mit Borken bedeckte Infiltrate, die sich mit dem Laufe der Zeit vergrößerten; die benachbarten Lymphdrüsen vergrößerten sich unter Neigung zu käsiger Degeneration. Das Kaninchen ging nach 3 Monaten ein, wobei sich in den bedeutend vergrößerten Nieren ziemlich beträchtliche Partien und Knoten von graugelblicher Farbe erwiesen; in den übrigen Organen sowie am Bauchfell kleine tuberkelartige Gebilde.

In allen diesen Versuchen wuchsen in der Regel aus den Organen (Leber, Niere, Knochenmark) und dem Blute 2 Formen von Bakterien, die sich morphologisch ähnlich waren, sich jedoch durch ihr Verhalten zu entfärbenden Mitteln unterschieden: Während die Individuen der einen Art bei der Färbung nach Ziehl-Neelsen ihre ursprüngliche Farbe zähe beibehielten, entfärbten sich die Individuen der anderen Art entweder vollständig und nahmen die Gegenfärbung an, oder behielten die ursprüngliche Färbung nur teilweise in Form der sogenannten metachromatischen Körner; in letzterem Falle konnten übrigens oftmals im Präparat einzelne Individuen angetroffen werden, welche in voller Kraft die Grundfarbe behalten hatten. Die beiden erwähnten Arten unterschieden sich auch durch ihr Wachstum auf Nährböden: Das Wachstum der säurebeständigen Form begann verhältnismäßig spät — $2\frac{1}{2}$ —3, sogar 4—5 Wochen nach der Aussaat und äußerte sich ge-

wöhnlich darin, daß sich auf der Oberfläche des Nährbodens vereinzelte kleine, gräuliche Kolonien zeigten, scharf abgegrenzt und erhaben; die Kolonien nahmen sehr langsam an Umfang zu und nebeneinanderstehende konfluerten; häufig bildeten sich in der durch die Vereinigung von 2 oder 3 Kolonien entstandenen Furche neue Kolonien, welche höher als die vorherigen emporschossen. Wurde in den nächsten Generationen viel Material zur Aussaat verwandt, so hatte die Kultur gewöhnlich das Aussehen einer zusammenhängenden schleimigen Auflagerung und erinnerte außerordentlich an die homogene Kultur der Tuberkelbacillen nach Arloing und Courmont. Die nicht säurefeste Form wuchs rasch: Häufig war schon am 2.—3. Tage die Oberfläche des Nährbodens mit einer kompakten schleimigen Auflagerung bedeckt, die nichts Charakteristisches aufwies. Die einzelnen Kolonien hatten größtenteils ein flaches Aussehen und erhoben sich nicht über die Oberfläche. Ein scharfer Unterschied zwischen diesen beiden Formen machte sich bei Tierversuchen bemerkbar. Während die säurebeständige Unterart sich für Kaninchen als sehr giftig erwies, zeigte die nicht säurefeste Unterart andere Eigenschaften: Die mit ihr geimpften Kaninchen leben noch heute, wo doch schon seit der Impfung über 1 Jahr verflossen ist. Dasselbe gilt von weißen Mäusen: 3 Mäuse, welche mit der säurefesten Unterart in die Bauchhöhle infiziert wurden, gingen nach 3—5 Monaten zu Grunde, während 2 Mäuse, die auf dieselbe Weise mit der nicht säurefesten geimpft wurden, erst nach 10 Monaten eingingen. Die mikroskopische Untersuchung der Organe dieser Mäuse ist noch nicht abgeschlossen, aber einen Befund glaube ich schon jetzt mitteilen zu müssen: In Ausstrichpräparaten, welche aus den verschiedenen Organen der mit nicht säurefesten Bacillen geimpften Mäuse hergestellt waren, ließen sich in beträchtlicher Menge säurebeständige Bacillen feststellen, welche sich in nichts von den bei den Kaninchen vorgefundenen unterschieden.

Im Dezember 1901 glückte es mir, eine neue Reinkultur von Leprabacillen aus einem Falle zu gewinnen, welcher im Ambulatorium der Moskauer dermatologischen Universitätsklinik angetroffen wurde. Der Patient fand Aufnahme im Katharinen-Stadthospital, wo ich ihn dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. N. N. Mamonow zu meinen Zwecken benutzen konnte. Aus einer ganzen Reihe von Reagenzgläsern, welche mit Blut und Stückchen eines von der Epidermis befreiten Hautleproms beschickt worden waren, erhielt ich bloß 2 Kulturen von Bacillen, die morphologisch den Leprabacillen ähnelten, sich jedoch durch das Fehlen der Säurefestigkeit unterschieden. Diese Kulturen benutzte ich zur Impfung eines Kaninchens und zwar ins Gehirn durch eine Trepanationsöffnung. Nach Verlauf von etwa $3\frac{1}{2}$ Monaten trat bei dem Tiere eine Lähmung zuerst der einen, dann der anderen hinteren Extremität ein: Das Kaninchen bewegte sich mit den Vorderbeinen und schleppte die hinteren vollständig passiv nach. Nach $2-2\frac{1}{2}$ Wochen ging das Kaninchen zu Grunde und wurde am 9. Mai 1902 sezirt. Die Veränderungen erwiesen sich als sehr ähnlich denjenigen, welche beim ersten Versuche erhalten worden waren: Dieselbe Hyperämie und Verdickung der weichen Rückenmarkshaut, hauptsächlich im Lendenbrustteil; dieselben Knötchen in dem Blinddarmfortsatz. Aehnlich im allgemeinen waren auch die Befunde bei der mikroskopischen Untersuchung: Dieselben Leprome in den Rückenmarkshäuten, der Leber und Nieren, aus Epitheloidzellen bestehend und in mehr oder weniger be-

trächtlicher Menge säurefeste Bacillen enthaltend, die sich in nichts von Leprabacillen unterschieden. Die bakteriologische Untersuchung durch Kulturen ergab folgendes:

1) In der Mehrzahl der Reagenzgläser wuchsen nach 2—3 Tagen nicht säurefeste Bacillen, morphologisch den Leprabacillen ähnlich, sich jedoch durch ihr Verhalten zu entfärbenden Mitteln unterscheidend.

2) In 3 Reagenzgläsern gingen Kulturen von säurefesten Bacillen auf: In 2 derselben, die mit Leber- und Nierenteilchen beschickt waren, ergab sich nach 5 Wochen ein eigenartiges Wachstum im Kondenswasser: in dem 3. entwickelten sich charakteristische Kolonien nach Verlauf von 5 1/2 Wochen um die Partikel des Impfmateriales herum (Knochenmark aus dem Oberschenkelknochen). Die genauere Untersuchung dieser Kulturen ergab völlige Uebereinstimmung mit den im ersten Versuche erhaltenen Kolonien.

Die Ergebnisse meiner Versuche und Beobachtungen möchte ich folgendermaßen zusammenfassen:

I. Der Erreger der Lepra besitzt eine bedeutende Veränderlichkeit seiner morphologischen und biologischen Eigenschaften in Abhängigkeit von den Existenzbedingungen.

II. Der Erreger der Lepra findet im tierischen Organismus (außer Kaninchen hatte ich es mit weißen Mäusen zu tun) einen günstigen Boden zur Entwicklung, wobei er seine eigentümliche Neigung zu intracellulärer Lagerung auch hier vollkommen beibehält. Besonders demonstrativ tritt diese Eigenschaft in den Organen der weißen Mäuse hervor: Die Epitheloidzellen, die die Leprome bilden, sind buchstäblich vollgestopft mit Bacillen, die hier nicht minder eng zusammengedrängt sind, wie dies in den sogenannten Leprazellen beobachtet wird.

III. Das sogenannte Inkubationsstadium kann bei künstlicher Infektion entweder von sehr langer oder von verhältnismäßig kurzer Dauer sein in Abhängigkeit davon, mit welcher Unterart der Bacillen wir die Versuche anstellen.

IV. Der Erreger der Lepra hat in seiner säurefesten Unterart Vieles mit dem Erreger der Tuberkulose gemein. Die Aehnlichkeit ist so bedeutend, daß Zweifel entstehen können, ob wir es in unseren Versuchen nicht mit selbständig entstandener Tuberkulose zu tun haben. Eine ganze Reihe von Tatsachen spricht jedoch gegen eine solche Annahme: 1) die hauptsächlichsten Veränderungen erhielt ich in den Rückenmarkshäuten, also an einem für primäre Tuberkulose (bei Tieren) ganz ungewöhnlichen Orte; im Gegenteil ist der Zusammenhang einer solchen Erkrankung mit der Impfung von Bacillen unter die Dura des Gehirns von selbst verständlich; 2) außer dem Charakter der Kultur, welche dem Aussehen nach eher Aehnlichkeit mit der Geflügeltuberkulose, keinesfalls dagegen mit der menschlichen Tuberkulose (wenigstens unter gewöhnlichen Verhältnissen) aufweist, zeichnen sich die von mir erhaltenen Bacillen durch leichte Veränderlichkeit ihrer morphologischen und biologischen Eigenschaften aus. Besonders auffällig ist der leichte Uebergang der säurefesten Unterart in die nicht säurebeständige und umgekehrt, eine Erscheinung, die ich nicht nur bei den Tierversuchen, sondern auch beim Studium der sogenannten Reinkulturen verfolgte. 3) Bei aller Aehnlichkeit des von mir bei Tieren erzielten Krankheitsbildes unterscheidet sich dasselbe dennoch wesentlich von

dem Bilde der Tuberkulose 1) durch das Ueberwiegen in den „Knötchen“ — wie dies überhaupt den Lepromen eigentümlich — von Zellen des epitheloiden Typus (ohne Ausnahme der parenchymatösen Organe); 2) durch die vorwiegende Lagerung der Bacillen im Innern der Zellen — eine Erscheinung, welche bis jetzt als eines der zuverlässigsten Erkennungszeichen der Lepra galt.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Züchtung des Influenzabacillus.

[Aus dem Garnisonlazarett Leipzig.]

Von Oberstabsarzt Dr. **Fichtner.**

Von der Entdeckung des Influenzabacillus an bis heute sind zahlreiche Versuche gemacht worden, die von R. Pfeiffer angegebene Kulturmethode (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIII) bequemer zu gestalten oder durch eine einfachere zu ersetzen. Teils war es die Art der Entnahme des Blutes und die Art seiner Beimischung zum Nährboden, die variiert wurden, teils versuchte man, an Stelle des Blutes Derivate des Hämoglobins, die beständiger sind, oder andere Eiweißkörper zu verwenden. In dieser Richtung bewegen sich aus früherer Zeit die Arbeiten von Huber, Nastjukoff, Richter, Capaldi, Voges. (Eine gute Uebersicht über diese Arbeiten findet man bei Ghon und v. Preyss, Studien zur Biologie des Influenzabacillus. [Centralbl. für Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902].) Größere Bedeutung hat hiervon nur der von Voges angegebene Nährboden erlangt: Voges (Berl. klin. Wochenschr. 1894) nimmt menschliches auf Eis aufbewahrtes Schröpfkopfblood, das er in der Menge von einigen Tropfen direkt in der Petri-Schale mit heißem, flüssigem Agar mischt. Eine weitere Modifikation, Blutnährböden herzustellen, beschreibt neuerdings Czaplewski (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902). Das Blut wird durch Einstich in den Brustmuskel der Taube gewonnen, mit der sterilen Pipette eines Pipettentropffläschchens aufgefangen und sodann ebenfalls dem verflüssigten Agar beigemischt.

In ein neues Stadium trat die Frage der Züchtung des Influenzabacillus durch die Arbeiten von Grassberger (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV u. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII) und Cantani (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI). Grassberger zeigte, daß das Wachstum des Influenzabacillus auf bluthaltigem Nährboden durch Staphylokokken und andere Keime begünstigt wird. In der Umgebung von Staphylokokkenkolonien entwickelten sich Riesenkolonien von Influenzabacillen. Doch war hierbei immer noch der Zusatz von Blut zum Nährboden notwendig. Cantani dagegen gelang die Züchtung des Influenzabacillus auch auf hämoglobinfreiem Nährboden. Bei gleichzeitiger Impfung von Diphtheriebacillen und Influenzabacillen auf gewöhnlichem Agar wuchsen beide Bakterienarten. Bei Verwendung von Ascitesagar oder Blutglycerinagar wurde das Wachstum sogar sehr üppig. Ferner wuchsen die Influenzabacillen auch, wenn er die bei 60° abgetöteten Diphtheriebacillen dem verflüssigten Agar zugesetzt hatte. In ähnlicher Weise wie Diphtheriebacillen verhielten sich Gonokokken und andere Keime. Endlich beobachtete Cantani Wachstum der Influenzabacillen bei Zusatz verschiedener Eiweiß-

körper zum Nährboden, z. B. Serumalbumin, Globulin, Mucin, Cholestearin u. a., doch war das Wachstum in diesen Fällen nicht sehr stark.

Die Cantanischen Versuche sind neuerdings durch Ghon und v. Preyss (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII) zum Teil nachgeprüft worden, doch mit negativem Resultat. Weder mit lebenden Diphtheriebacillen noch nach Zusatz abgetöteter erhielten sie auf gewöhnlichem Agar Wachstum. Sie sind deshalb geneigt, wenigstens einen Teil der Cantanischen Resultate durch Mitübertragung von Blut zu erklären. Sie empfehlen zwei neue Nährböden, die entweder Hämatin oder in Soda gelöstes sterilisiertes Blut enthalten und auf denen die Influenzabacillen an und für sich nicht, wohl aber nach Zusatz eines Hilfskeimes (lebend oder auch abgetötet) sehr üppig wachsen. Einzelne Kolonien erreichten den gewaltigen Durchmesser von $\frac{1}{2}$ cm.

Neisser berichtet in einer kürzlich erschienenen Arbeit (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 26), daß er Influenzabacillen in Symbiose mit Xerosebacillen durch sehr lange Zeit hindurch gezüchtet habe. Zusatz abgetöteter Bacillen oder von Extrakten war nicht so regelmäßig wirksam wie die Züchtung mit lebenden Keimen. Auch mit Diphtheriebacillen gelang ihm die Fortzüchtung.

So interessant und wertvoll alle diese Arbeiten über die Symbiose des Influenzabacillus sind, zu einem einfachen, rasch herzustellenden Nährboden, der den Blutagar verdrängen könnte, haben sie bis jetzt ebensowenig geführt, wie die Versuche, das Blut durch andere leichter erhältliche und beständigere Eiweißkörper zu ersetzen. Meiner Meinung nach bleibt auch jetzt noch die ursprüngliche Pfeiffersche Methode, menschliches (oder Taubenblut) auf dem Agar auszustreichen, wenigstens für den, der gezwungen ist, unter einfachen Verhältnissen zu arbeiten, die einfachste und zuverlässigste. Um möglichst immer sterile Röhren oder Platten zu erhalten, verfähre ich so, daß ich das Blut dem Ohr läppchen eines Gehilfen (nicht dem Finger) nach gründlichem Abreiben mit Aether und Alkohol entnehme. Zum Einstich bediene ich mich der bekannten und sehr zu empfehlenden Frankeschen Nadel. Diese gestattet die Größe und Tiefe des Einstiches beliebig zu variieren, je nach der Menge des Blutes, die man braucht, und verursacht so gut wie keine Schmerzen. Das zuerst austretende Blut wird mit steriler Watte abgewischt. Bei kleinerem Einstich muß man, um rasch die nötige Blutmenge zu erhalten, das Ohr läppchen seitlich etwas zusammendrücken. Das Uebertragen des Blutes erfolgt mittels der Platinöse. Auf diese Weise lassen sich bequem in wenigen Minuten eine größere Anzahl Röhren und Platten herstellen. Selbstverständlich steht nichts entgegen, das Blut dem verflüssigten Agar beizumischen. Da man in diesem Falle etwas mehr Blut braucht, muß man den Einstich verhältnismäßig groß machen und sich einer recht großen Oese oder auch einer kleinen sterilen Tropfpipette nach Czaplewski bedienen. Bei diesem Vorgehen habe ich niemals Anlaß zu Klagen gehabt und fast regelmäßig sterile Röhren erhalten.

Für den Nachweis der Influenzabacillen im Sputum ist die Pfeiffersche Methode völlig ausreichend und auch verhältnismäßig einfach. Dagegen ist die Fortzüchtung von Reinkulturen mittels Blutagars recht umständlich, weil die Lebensdauer der Kulturen sehr gering ist. Nach R. Pfeiffer beträgt sie etwa 14 Tage. Indessen ist es nicht geraten, so lange mit dem Abimpfen zu warten. Die Kulturen verhalten sich wohl verschieden, und es gelingt die Uebertragung oft schon nach

wenigen Tagen nicht mehr. Man muß daher, um sicher zu gehen, aller 2—4 Tage umstechen.

Zur Weiterzüchtung von Reinkulturen hat mir in letzter Zeit ein Nährboden recht gute Dienste geleistet, der als wirksamen Bestandteil Sputum enthält. In ihm halten sich die Influenzabacillen verhältnismäßig lange lebend, bis etwa 4 Wochen, zuweilen noch länger, sofern man sich nämlich der Stiechkultur bedient. Ich möchte gleich im voraus bemerken, daß ich weit entfernt bin, diesen Sputumagar für einen idealen Nährboden zu halten. Er kann den Blutagar bei der Reinzüchtung nicht völlig ersetzen aus späterhin zu erwähnenden Gründen, auch ist er nicht bequemer herzustellen als dieser. Immerhin ist er zu manchen Zwecken brauchbar und bietet in mehrfacher Hinsicht Interesse.

Es ist ein sehr naheliegender Gedanke, Sputum zur Züchtung des Influenzabacillus zu verwenden. Vermehren sich doch die Bacillen im Körper des Kranken in dem Sekret der Luftwege! Treten sie doch in so ungeheurer Menge darin auf, wie wir es bei anderen Keimen kaum finden! Es ist daher ohne weiteres klar, daß das Sputum Stoffe, die für das Wachstum der Influenzabacillen geeignet sind, enthalten muß. Das beweist auch die schon von R. Pfeiffer festgestellte Tatsache, daß die Bacillen im ersten Ausstrich von Influenzasputum auch ohne Blutzusatz wachsen und ihre charakteristischen Kolonien bilden. R. Pfeiffer nimmt nun an, daß es die Beimengung von Hämoglobin zum Sputum ist, das dem Influenzabacillus das Wachstum ermögliche. Er erhielt nämlich kein Wachstum mehr, wenn er das Sputum wiederholt mit destilliertem Wasser gewaschen und dadurch das Hämoglobin entfernt hatte. Ich kann mich auf Grund meiner Resultate dieser Ansicht nicht ganz anschließen, sondern bin der Ueberzeugung, daß das Sputum noch andere komplizierte Eiweißkörper enthält, die für den Influenzabacillus einen guten Nährboden bilden, Stoffe, die offenbar in den Eiterzellen und Epithelien enthalten sind. Ich werde später hierauf zurückkommen.

Die Verwendung von Sputum als Nährboden für Influenzabacillen scheidet zunächst daran, daß es sich nicht auf die gewöhnliche Weise sterilisieren läßt. Denn durch jedes Erhitzen auf höhere Temperatur als etwa 70° durch etwas längere Zeit hindurch werden die Eiweißstoffe derart verändert, daß sie nun zum Wachstum des Influenzabacillus gänzlich untauglich sind. Es mußte also versucht werden, ob sich Sputum ohne Erhitzen auf 100° sterilisieren läßt.

Manche Sputa, z. B. solche von gewissen Bronchitiden oder auch von manchen Tuberkulosen, sind relativ keimarm. Wenn man ein derartiges Sputum in möglichst frischem und reinem Zustande — es muß also deutlich alkalisch reagieren, saure Reaktion zeigt Zersetzung an — längere Zeit einer Temperatur von 60—65° im Wasserbade aussetzt, so gelingt es nicht selten, alle Keime abzutöten. Ich bediente mich dabei des Reagenzglases. Man bringt einige Kubikcentimeter solchen reinen Sputums in ein steriles Reagenzglas und stellt es möglichst tief in ein Wasserbad, das (mittels der kleinen Sparbrenner) auf der gewünschten Temperatur konstant erhalten wird. Das Glas muß natürlich so tief eintauchen, daß auch die oberen Schichten eine Temperatur von 60° annehmen. Auch dürfen keine Sputumteilchen am oberen Ende des Glases haften, wo die Temperatur des Wassers nicht einwirken kann. Diese Gegend muß man, wenn nötig, durch Ausglühen sterilisieren. Durch den Einfluß der angegebenen Temperatur wird das Sputum in verschieden langer Zeit, je nach seiner Beschaffenheit, völlig homogen

und dünnflüssig. Man befördert diesen Vorgang durch leichtes Schütteln des Glases, ohne es aus dem Wasser zu entfernen, oder besser durch Umrühren und Verreiben mit einem sterilen, zweckmäßig etwas ange-
rauhten Glasstab. Solange noch Flocken vorhanden sind, darf man die Erwärmung nicht unterbrechen. Länger als etwa $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden habe ich nicht erwärmt. Ein derartig behandeltes Sputum ist ein guter Nährboden für Influenzabacillen. Man kann es genau wie Blut verwenden, indem man eine Oese davon auf schräg erstarrtem Agar oder einer Platte ausstreicht. In der Größe verhalten sich die angehenden Kolonien etwa wie die auf Blutagar. Sie bleiben in der Regel klein und tröpfchenartig und sind etwas trüber und flacher als bei Verwendung von Blut. Am Rande des Ausstriches erreichen sie oft größere Dimensionen. Ist das Sputum steril, so kann man es jetzt etwa einige Wochen verwenden. Doch läßt seine Wirksamkeit im Laufe der Zeit nach und hört allmählich auf. Beim Stehen bilden sich 2 Schichten, ein weißer Bodensatz und eine anfangs milchig trübe, später ganz klar werdende Flüssigkeit. Vor der Verwendung muß man es umschütteln.

Auch wenn es nicht gelingt, alle Keime eines Sputums abzutöten, läßt sich doch die Tatsache, daß Influenzabacillen darauf wachsen, leicht konstatieren. Denn durch die oben beschriebene Prozedur wird die Keimzahl auf jeden Fall so stark herabgesetzt, daß nur ganz vereinzelte Kolonien neben denen des Influenzabacillus aufgehen. Aber selbstverständlich ist das Sputum dann nicht weiter zu gebrauchen. Es ist übrigens ganz erstaunlich, wie selbst in hochgradig verunreinigten und zersetzten Sputis durch dieses Erwärmen auf 60° die Keimzahl herabgesetzt wird. Es blieben in meinen Versuchen meist nur ganz wenig Keime im Kubikcentimeter entwicklungsfähig, während das unerwärmte Sputum auf der Kontrollplatte die ungeheuersten Mengen aufwies. Und auch die überlebenden Keime sind im Wachstum zurückgehalten und vermehren sich im Sputum bei gewöhnlicher Temperatur entweder gar nicht oder erst nach längerer Zeit.

Nachdem auf diese Weise die Fähigkeit des Sputums, dem Influenzabacillus als Nährboden zu dienen, und die Möglichkeit, es keimfrei zu erhalten, dargetan war, habe ich versucht, es in passendere Form zu bringen, um es dem Agar zusetzen zu können, denn in der oben beschriebenen Weise verwendet, bietet es keine Vorzüge vor dem gewöhnlichen Blutagar. Zu diesem Zwecke versetzte ich es mit Bouillon oder Kochsalzlösung. In letzter Zeit bin ich gewöhnlich folgendermaßen verfahren: Frisches und möglichst reines Sputum wird, jedoch ohne besondere Reinigung, in sterilem Reagenzglas oder kleinem Kölbchen in das Wasserbad von 60 — 65° gebracht und verbleibt hier ca. $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden. Die Homogenisierung wird durch häufiges Umrühren und Verreiben mit dem Glasstabe befördert. Hierauf wird das Sputum mit etwa der 2—3-fachen Menge Bouillon oder 0,8-proz. steriler Kochsalzlösung übergossen, gut gemischt und nochmals etwa $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erwärmt. Nach kurzer Zeit ruhigen Stehens setzt sich ein größerer oder geringerer Bodensatz ab, je nach der Beschaffenheit des Sputums und dem Grade der Verdünnung. Die darüberstehende Flüssigkeit ist milchig getrübt, wird aber im Laufe der Zeit allmählich klarer.

Wenn man nun von dieser Flüssigkeit etwa 1 ccm zu einem Röhrchen gewöhnlichen lackmusneutralen Agars, der auf 60° abgekühlt ist, hinzusetzt, so erhält man einen ausgezeichneten Nährboden für Influenzabacillen. Wenn man schön eitriges Sputum genommen hat, so ist das

Wachstum oft erstaunlich üppig, viel stärker, als wenn man Sputum einfach auf Agar ausstreicht. Man kann auch von der umgeschüttelten Sputumaufschwemmung hinzusetzen, erhält dann aber einen trüben Nährboden, während er bei Verwendung der Flüssigkeit allein noch gut durchsichtig bleibt.

Selbstverständlich gelingt es auch bei diesem Verfahren nicht immer, alle Keime des Sputums abzutöten. Jedoch habe ich folgende Beobachtung gemacht, die die Verwendung auch ungünstigeren Sputums ermöglicht. Beim Stehen setzen sich die etwa vorhandenen noch lebenden Keime im Bodensatz mit ab. Die darüberstehende Flüssigkeit bleibt lange Zeit völlig rein. Man erhält bei ihrer Verwendung sterile Röhrchen, während bei Verwendung des Sediments einzelne verunreinigende Kolonien aufgehen. Die Vermehrung der hier vorhandenen Keime geht im Sputum selbst jedenfalls sehr langsam vor sich. Ein auf die beschriebene Weise verarbeitetes Sputum bleibt ebenfalls nur eine gewisse Zeit brauchbar. Je frischer es verwendet wird, desto üppiger ist das Wachstum der Influenzabacillen. Allmählich läßt seine Wirksamkeit nach, immerhin kann man oft wochenlang damit arbeiten. Nach 2 Monaten ließ ein Sputum, das vorher sehr üppiges Wachstum ergab, nur noch sehr kleine Kolonien angehen. Die Flüssigkeit wird allmählich wasserklar.

Ich habe das beschriebene Verfahren noch mehrfach abgeändert. An Stelle der Kochsalzlösung oder Bouillon kann man auch destilliertes Wasser verwenden oder eine schwache Lösung von Natrium carbonicum oder NaOH, oder man kann die Kochsalzlösung schwach alkalisch machen. Alles das ändert nicht viel am Resultat. Früher vermengte ich das Sputum sofort, vor dem Erwärmen, mit der Kochsalzlösung. In diesem Falle ist schwaches Alkalisieren zuweilen zweckmäßig, weil es die Lösung des Schleimes befördert. Aber ich finde das obige Verfahren am bequemsten und zweckmäßigsten. Auch der etwaige Glyceringehalt des Nährbodens spielt keine Rolle. Ebenso kommt nicht viel auf die Reaktion des Nährbodens an, insofern sie sich nur zwischen der Lackmus- und Phenolphtaleingrenze hält. Eine genaue Einstellung der Reaktion würde schon deshalb zwecklos sein, weil sie durch den Zusatz des Sputums in nicht zu kontrollierender Weise geändert wird.

Vielfach verwendet habe ich Chloroform, um nicht sicher sterile Sputa steril zu machen oder wenigstens die Vermehrung der vorhandenen Keime zu verhindern. Aber abgesehen von der Unbequemlichkeit, daß man die Röhrchen erst benutzen kann, wenn das Chloroform verdunstet ist, habe ich auch den Eindruck gewonnen, als ob die Wirksamkeit des Sputums nach Zusatz von Chloroform rascher nachließe als sonst, wenigstens in manchen Fällen. Bis zur endgültigen Sterilisierung kann man mit der Verwendung des Sputums doch nicht warten, weil innerhalb dieser Zeit seine Wirksamkeit überhaupt aufhört oder doch zu gering wird. Man muß deshalb immer die obere keimfreie Flüssigkeit benutzen, und da diese auch ohne Chloroform in den meisten Fällen längere Zeit keimfrei bleibt, so ist der Nutzen des Chloroforms sehr gering.

Wie verhält sich nun das Wachstum des Influenzabacillus auf diesem Sputumnährboden? Ich hatte 5 Stämme zur Verfügung, die von Influenzkranken des letzten Winters gewonnen waren. Vier davon verhielten sich im Anfang auf Blutagar vollkommen typisch, wenn auch die Länge und Dicke der Stäbchen bei den verschiedenen Stämmen und den einzelnen Generationen gewissen unbedeutenden Schwankungen unterworfen waren, der 4. Stamm glich den Pseudoinfluenzabacillen R. Pfeiffers,

insofern er etwas längere und dickere Stäbchen zeigte und zur Bildung von Scheinfäden neigte. Auch er stammte übrigens von einem Influenzranken.

Makroskopisch verhalten sich die Kolonien auf Platten oder Schrägröhrchen folgendermaßen: Sie sind rund, wenn sie isoliert stehen. Bei dichter Aussaat und üppigem Wachstum bilden sie häufig einen ziemlich zusammenhängenden Rasen, der aber immer deutlich die Zusammensetzung aus Einzelkolonien erkennen läßt. Ihre Größe richtet sich nach der Dichte der Aussaat. Dicht stehende Kolonien sind natürlich klein, einzeln stehende erreichen Durchmesser von etwa 1 bis zu 2 mm. Meist erscheinen die Kolonien etwas flacher, nicht so ausgesprochen halbkuglig wie auf Blutagar. Sie sind ferner schon von Anfang an nicht so wasserhell durchsichtig, sondern bereits nach 24 Stunden bläulich oder grauweiß und undurchsichtig. Nach längerem Wachstum als 48 Stunden treten besondere Veränderungen nicht mehr ein.

Bei schwacher Vergrößerung gleichen ganz junge Kolonien denen auf Blutagar. Sie sind wasserhell und strukturlos, nur zuweilen schon ein kleines, stark lichtbrechendes Körnchen im Innern zeigend, und leicht gelblich daselbst gefärbt. In etwas älteren Kolonien treten dann jene für Influenza so charakteristischen Körner in großer Menge auf, die wohl mit der Degeneration der Bacillen in Zusammenhang stehen. Gleichzeitig wird der Farbenton im Innern stärker gelblich.

Im Kondenswasser der Agarröhrchen entwickeln sich die Bacillen als weißer flockiger Niederschlag.

In Stichkulturen tritt fast längs des ganzen Stiches gutes Wachstum ein, das nur von oben nach unten etwas abnimmt, der Stich gleicht meist einem etwas aufgefaseren Zwirnsfaden. Auf der Oberfläche findet sich eine kleine, einige Millimeter nicht überschreitende, dünne flächenhafte Ausbreitung von unregelmäßig bogiger Begrenzung. Meist wird aber bei sofortiger Impfung des fertig gestellten Röhrchens infolge des Flüssigkeitszusatzes zum Agar etwas Kondenswasser ausgepreßt, das sich dann trübt, und nach dessen Verdunstung die Influenzabacillen als nicht ganz gleichmäßig verteilter, dünn grauer Belag auf der Oberfläche zurückbleiben.

Da die Bacillen im Innern des Agars wachsen, so kann man auch Platten mit Sputumagar gießen. Die Kolonien erscheinen dem bloßen Auge als feine Pünktchen. Bei schwacher Vergrößerung sind die tiefliegenden unregelmäßig begrenzt, höckerig, häufig geradezu eckig, von hellbräunlicher Farbe. Das Innere ist infolge verschiedener Lichtbrechung mehr oder weniger körnig, so daß sie anfangs häufig eine gewisse Ähnlichkeit mit jungen Cholera-Gelatinekulturen aufweisen. Die oberflächlichen Kolonien bilden kleine, dünne, fein granuliert Auflagerungen von runder Form. Der oben als Pseudoinfluenzabacillus bezeichnete Stamm bildet etwas größere, dunklere Kolonien.

Auch in Bouillon, der man Sputum zusetzt, wachsen die Influenzabacillen als schwache, ziemlich gleichmäßige Trübung. Nach einigen Tagen setzen sie sich als dünnes Sediment ab und die Bouillon wird wieder klar. Im hängenden Tropfen sieht man die Bacillen nicht gleichmäßig verteilt, sondern in größeren oder kleineren Schwärmen angeordnet.

Verwendet man älteres Sputum, so wird, wie bereits erwähnt, das Wachstum dürftiger, die Kolonien werden kleiner, zuletzt nur punkto- oder staubförmig; im Stich sieht man nur eine leichte Trübung. Doch

sind auch aus solchen Kulturen die Bacillen noch übertragbar und wachsen auf frischem Sputum in der alten Weise. Wenn man ferner bedenkt, daß die Sputa doch recht verschieden beschaffen und zusammengesetzt sind, daß jedes Sputum bei der beschriebenen Anwendung in nicht genau bestimmter Weise verdünnt wird, so ist erklärlich, daß auch bei Verwendung frischen Sputums gewisse Schwankungen in der Art und dem Grade des Wachstums unvermeidlich sind. Das was die Kolonien des Influenzabacillus auf Sputumagar hauptsächlich von denen auf Blutagar unterscheidet, ist ihre Trübung schon nach 24 Stunden und in vielen Fällen das Fehlen der kugeligen Form. Damit entfallen die Merkmale, die die Auffindung des Influenzabacillus im Sputumausstrich so sehr erleichtern. Auch bei Verwendung des Sputumagars ist ihre Auffindung bei einiger Erfahrung gut möglich, sie ist mir wiederholt gelungen, aber sie ist doch etwas schwieriger. Man muß sich dabei besonders an die im Innern der Kolonien bald auftretenden Körner halten. Es ist deshalb für die Reinzüchtung des Influenzabacillus aus Sputum praktischer, den Blutagar beizubehalten.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der auf Sputumagar gezüchteten Influenzastämme ergaben sich einige bemerkenswerte Tatsachen. Alle Stämme erwiesen sich als stark variabel, und zwar ohne daß immer bestimmte Gründe für die Variabilität aufzufinden waren. Zwar traten abnorme Formen häufig dann auf, wenn der Nährboden nicht ganz frisch und das verwendete Sputum etwas älter war, doch gilt dies nicht durchgehends; ich habe atypisches Wachstum auch unter ganz regelrechten Verhältnissen häufig beobachtet. Die Länge und Dicke der Stäbchen schwankt in größeren Breiten als auf Blutagar, es treten häufig Formen auf, die man dem mikroskopischen Bilde nach gar nicht mehr für Influenzabacillen halten könnte, wenn man daneben nicht alle Uebergänge bis zur typischen Form sähe. Andererseits wuchs wieder der als Pseudoinfluenzabacillus bezeichnete Stamm in manchen Generationen plötzlich in typischer Influenzaform als kleines, feines Stäbchen und zwar auf demselben Nährboden, wo ein anderer Stamm atypisches Wachstum zeigte. Dazu kommt die Scheinfädenbildung. Sie trat bei allen Stämmen auf, oft in reichlichstem Maße, aber durchaus nicht immer. Besonders interessant sind endlich die schon von Grassberger (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII) beschriebenen monströsen Formen, die ich auch einigemal gesehen habe, Keulen, Wülste, Kugeln von oft ungeheuerlicher Größe. Ich habe diese Formen einmal innerhalb der ersten 24 Stunden in reichlicher Menge angetroffen, während sie nach 48 Stunden nur noch vereinzelt aufzufinden waren. Man ist versucht, besonders beim Auftreten dieser monströsen Formen zu zweifeln, ob man überhaupt noch Influenza vor sich hat, und ist erstaunt, die nächste Generation plötzlich wieder in ganz typischer Weise wachsen zu sehen. Irgend eine Regel war bei diesen vielfachen Variationen nicht zu erkennen.

Diese Tatsachen werfen auch ein Licht auf die viel diskutierte Streitfrage, ob die von R. Pfeiffer beschriebenen Pseudoinfluenzabacillen von den echten Influenzabacillen abzutrennen sind. Sie zeigen, daß auch die auf Blutagar typischen Influenzastämme auf anderen Nährböden genau dieselben Eigenschaften wie Pseudoinfluenzabacillen annehmen, nämlich die Neigung, längere und dickere Formen und Scheinfäden zu bilden. Aehnliche Beobachtungen haben auch andere Autoren vielfach gemacht, z. B. fand Cantani bei Züchtung echter Influenzabacillen auf Gallenagar Wachstum nach Art der Pseudoinfluenzabacillen.

Andere Autoren beobachteten auch vielfach Variationen des Wachstums auf Blutagar in den verschiedenen Generationen. Man wird daher aus diesen morphologischen Charakteren keinen Artunterschied herleiten können und die Pseudoinfluenzabacillen nur als Varietäten der echten auffassen dürfen.

Was die Haltbarkeit der Influenzabacillen auf Sputumagar anlangt, so ist die der Oberflächenkulturen wohl ungefähr gleich der auf Blutagar. Hier wie dort beobachtet man kleine Verschiedenheiten, Differenzen von einigen Tagen, im allgemeinen aber ist es immer ratsam, innerhalb der ersten 3—4 Tage abzuimpfen und zwar reichliches Material dabei zu übertragen, wenn man auch zuweilen noch nach 14 Tagen positive Resultate erhält. Auch in Bouillonkulturen bleiben die Bacillen nicht lange am Leben. Viel günstiger verhalten sich dagegen StICKkulturen. Von ihnen kann man noch nach 4 Wochen und später mit Erfolg abimpfen. Ich habe z. B. einige Stämme nach mehr als 4-wöchentlicher Abwesenheit aus alten Kulturen wieder gewonnen. Doch sind auch hierbei einige Vorsichtsmaßregeln zu beachten: Zunächst habe ich die Kulturen im Brutschrank bei 36—37° gehalten. Ob ihre Lebensdauer bei Zimmertemperatur ebenso lang oder noch länger ist, kann ich nicht sagen. Für Blutagarkulturen macht nach R. Pfeiffer die Aufbewahrungstemperatur keinen Unterschied. Wenn man ferner von einer sehr alten Kultur abimpft, muß man sich eines möglichst frischen Nährbodens, d. h. frisch bereiteten Sputums bedienen, und da zunächst am besten der StICKkultur. Auch muß man viel Impfmateriel übertragen, indem man mit dicker Nadel in den Stich seiner ganzen Länge nach und wiederholt eingeht. Zweckmäßig hat sich mir in letzter Zeit auch das Plattengießen erwiesen, wenn ich die Bacillen aus alten Kulturen wieder gewinnen wollte. Ich bin erstaunt gewesen, wie zahlreiche Kolonien dabei oft noch wuchsen, während der einfache Ausstrich sehr dürftige oder keine Resultate gab. Vielleicht sind mittels dieser Methode die Bacillen auch noch aus älteren Kulturen, als ich sie bisher verwandte, zu züchten. Besonders warnen aber möchte ich davor, von älteren Sputumkulturen auf Blutagar überzuimpfen. Man wird dann (wenigstens bei Verwendung von Menschenblut, das ich allein gebrauchte) niemals ein Resultat haben. Durch die längere Fortzüchtung auf Sputumagar wird die Wachstumsfähigkeit auf Blut offenbar sehr vermindert. Diese eigentümliche Tatsache habe ich vielfach konstatiert. Ich erhalte bei meinen jetzt monatelang auf Sputum gezüchteten Stämmen nur dann Wachstum auf Blutagar, wenn ich von ganz frischen Kulturen, die noch nicht 24 Stunden alt sind, abimpfe. Auch dann bleiben die Kulturen noch kümmerlich, die Kolonien sind klein, flach und uncharakteristisch, die Weiterzüchtung gelingt nur schwer. Sehr begünstigt wurde das Wachstum auf Blutagar, wenn zufällig ein wachstumsfördernder Keim mit auf die Platte gelangte oder absichtlich zugesetzt wurde.

Ueber das Verhalten der verschiedenen Sputumarten ist folgendes zu sagen: Ich habe eine größere Reihe von Sputis aller Art untersucht, ungefähr 20, viele zu wiederholten Malen — mit allen ohne Ausnahme habe ich Wachstum der Influenzabacillen erzielt. Selbst stark zersetzte Sputa, die ich nur der Frage der Sterilisierung wegen untersuchte, verhielten sich noch positiv, wenn auch das Wachstum nicht sehr üppig war. Am geeignetsten sind schleimig-eitrige oder stärker eitrige Sputa von Bronchitiden oder Tuberkulösen. Auf ihnen ist das Wachstum oft erstaunlich üppig. Weniger geeignet erwiesen sich auffallenderweise

die typisch pneumonischen, d. h. rein schleimig-blutigen Sputa, obwohl man gerade bei ihnen wegen des Blutgehaltes ein besonders kräftiges Wachstum erwarten sollte. Erst bei stärkerer Beimengung weißer Blutzellen werden auch sie brauchbar. Diese Erfahrung führt mich auf die Frage der Hämoglobinwirkung und des Wachstums der Influenzabacillen auf hämoglobinfreien Nährböden.

Daß auch rein weiße schleimig-eitrige Sputa, in denen makroskopisch keine Spur Blut wahrzunehmen ist, Spuren von Hämoglobin oder Hämoglobinderivaten enthalten können, läßt sich nicht bezweifeln. Verdankt doch das Sekret einem Entzündungsprozeß seine Entstehung, bei dem es öfters zu kleinen Blutaustritten kommt. Es liegt daher der Gedanke sehr nahe, das Wachstum des Influenzabacillus auf meinem Sputumnährboden auf diese kleinen Hämoglobinmengen zu beziehen. Doch glaube ich, daß diese Ansicht nicht zutreffend sein würde. Man überlege zunächst folgendes: Die in rein weißem, von sichtbarem Blut freiem Sputum enthaltene Hämoglobinmenge ist doch äußerst gering (von etwa vorhandenen Hämoglobinderivaten wissen wir außerdem gar nicht, ob sie das Wachstum des Influenzabacillus überhaupt ermöglichen). Sie wird durch den Zusatz von Bouillon oder Kochsalzlösung noch außerordentlich stark verdünnt und erfährt im Agar eine weitere starke Verdünnung. Welche geringe Menge von Hämoglobin gelangt also schließlich in den verwendeten Nährboden! Damit vergleiche man die üppigen Kulturen, die auf solchem Nährboden wachsen. Ein größeres Mißverhältnis ist gar nicht denkbar; und daß der Gehalt des Nährbodens an Hämoglobin und die Ueppigkeit der Kultur innerhalb gewisser Grenzen sich entsprechen müssen, scheint mir unzweifelhaft. So macht es schon die einfache Betrachtung der Sputumkulturen unwahrscheinlich, daß es sich hier um Hämoglobinwirkung handelt. Dazu kommt weiterhin die oben erwähnte Tatsache, daß die auf Sputum längere Zeit gezüchteten Influenzastämme auf Blutagar nur noch schwer und kümmerlich wachsen, ferner das Verhalten des pneumonischen Sputums. Verfährt man mit Blut wie mit Sputum, verdünnt man also eine entsprechende Menge mit Kochsalzlösung und erwärmt nun längere Zeit auf 60—65°, so geht die rote Farbe des Blutes allmählich in braun über infolge Zersetzung des Hämoglobins. Es bildet sich dann nach einigem Stehen ein brauner Niederschlag und eine klare, leicht bräunliche Flüssigkeit. Sowohl die Flüssigkeit allein wie mit dem Niederschlag zusammen ermöglichen, zu Agar hinzugesetzt, dem Influenzabacillus das Wachstum, was ja mit den Beobachtungen R. Pfeiffers und anderer in Uebereinstimmung steht, es reicht aber bei weitem nicht an das heran, was man bei Verwendung frischen Sputums gewöhnlich sieht. Und doch handelt es sich hier um bedeutend größere Blutmengen.

Hiernach glaube ich, daß bei den Sputumnährböden das Hämoglobin wenn überhaupt, nur von sehr untergeordneter Bedeutung ist und daß die wirksamen Stoffe andere Eiweißkörper sind, die aus den Zellen des Sputums stammen. Vielleicht kommt auch dem Schleim eine gewisse Wirksamkeit zu. Cantani sah ja den Influenzabacillus wachsen, wenn er dem Nährboden Mucin aus Galle hinzusetzte. Man muß auch noch an eine zweite Möglichkeit denken. Jedes Sputum enthält eine große Menge Keime. Wenn sich darunter solche finden, die das Wachstum des Influenzabacillus zu „fördern“ geeignet sind, so wäre es denkbar, daß durch das Erwärmen aus ihnen Stoffe frei gemacht würden, die die günstige Wirkung des Sputums zu steigern geeignet sind.

Daß der Influenzabacillus auf völlig hämoglobinfreiem Nährboden gezüchtet werden kann, wissen wir aus den schönen Untersuchungen Cantanis. Einige seiner Untersuchungen, die die Diphtheriebacillen betreffen, habe ich nachgeprüft und zwar mit positivem Erfolge. Den von Ghon und von v. Preyß erhobene Einwand, daß vielleicht ein Teil der positiven Erfolge Cantanis durch mitübertragenes Hämoglobin (z. B. bei Verwendung von Stiersperma oder von Serum bei den Gonokokkenversuchen) zu erklären sei, hat Cantani (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII) zurückgewiesen. Bei meinen Versuchen ist es auch ausgeschlossen, da ich zuletzt mit Sputumkulturen gearbeitet und auch damit positive Erfolge gehabt habe. Wenn ich gewöhnlichen Agar zunächst mit frischer Influenza, sodann mit Diphtheriebacillen impfte, so entwickelten sich zwischen und um die Kolonien der letzteren zahlreiche feinste, ganz dicht stehende, an manchen Stellen einen zusammenhängenden Rasen bildende Influenzokolonien. An manchen Stellen kam es auch zur Bildung größerer Kolonien, die denen auf Blutagar sehr ähnlich waren. Ebenso habe ich auf Agar, der mit bei 60° abgetöteten Diphtheriebacillen versetzt war, Influenzabacillen wachsen sehen. Hier waren die Resultate wechselnd: Teils erhielt ich schön ausgebildete, makroskopisch sichtbare tauröpfchenartige Kolonien, teils nur einen dünnen schleierartigen Belag, zuweilen auch nichts. Worauf diese Schwankungen beruhen, läßt sich nicht sagen. Die Stoffe, deren die Influenzabacillen zum Wachstum bedürfen, sind offenbar so empfindlich, daß schon geringfügige Aenderungen des Verfahrens oder auch kleine Unterschiede bei den einzelnen Stämmen Einfluß auf den Erfolg der Versuche haben. Wie kapriziös der Influenzabacillus ist, beweist auch sein Verhalten zum Eigelb. Die einen Untersucher haben Wachstum gesehen, die anderen nicht. Ich habe einmal auf mit Eigelb dünn bestrichenem Agar deutliches, ziemlich reichliches Wachstum erhalten, dann trotz weiterer Versuche niemals wieder.

Wenn es nach alledem feststeht, daß zum Wachstum des Influenzabacillus nicht allein die roten Blutscheiben mit ihrem Hämoglobin geeignet sind, sondern auch andere Zellen mit Eiweißkörpern anderer Art, so ist es von vornherein wahrscheinlich, daß auch die Extrakte von Körperorganen geeignete Nährflüssigkeiten liefern werden. Einige hierüber angestellte Versuche haben diese Vermutung bestätigt. Indessen lassen sich natürlich derartige Organextrakte nicht in dem Maße blutfrei gewinnen, daß man hier den Einfluß des Hämoglobins ganz ausschalten könnte. Daß sich auf diesem Wege haltbare und praktisch brauchbare Nährböden gewinnen lassen werden, bezweifle ich. Meine Erfahrungen darüber sind indessen bis jetzt nicht sehr ausgedehnt.

Die Resultate dieser Untersuchungen lassen sich in folgendem kurz zusammenfassen.

1) Frisches Sputum, das längere Zeit auf 60—65° erwärmt worden ist, läßt sich ebenso wie Blut zur Kultur des Influenzabacillus verwenden. Die wirksamen Stoffe sind wahrscheinlich die in den Zellen vorhandenen Eiweißkörper.

2) Durch längeres Erwärmen auf 60—65° gelingt es häufig, Sputum keimfrei zu machen. Zieht man dann bei derselben Temperatur mit der 2—3-fachen Menge Bouillon oder Kochsalzlösung aus und setzt von dieser Flüssigkeit ca. 1 ccm zu einem Röhrchen gewöhnlichen Agars, so erhält man einen Nährboden, auf dem der Influenzabacillus sehr üppig

wächst. Doch läßt die Wirksamkeit dieser Sputumaufschwemmung allmählich nach.

3) StICKKulturen dieses Sputumagars sind etwa 4 Wochen lang haltbar, müssen aber wieder auf den gleichen Nährboden übertragen werden. Auf Blutagar gelingt die Uebertragung nicht.

4) Alle untersuchten Stämme des Influenzabacillus erwiesen sich auf Sputumagar sehr variabel, indem die Länge und Dicke der Stäbchen in weiten Grenzen wechselte, Neigung zu Scheinfädenbildung bestand und zuweilen monströse Formen auftraten.

Nachdruck verboten.

Ein neuer elektiver Nährboden für Auswurf-Tuberkelbacillen.

Beitrag zur Erklärung der Ursache der Lungentuberkulose.

Von Bezirksarzt Dr. W. Hesse in Dresden ¹⁾.

1) Wasser-Agaragar (1 Teil Agaragar und 99 Teile dest. Wasser) sowie Glycerin-Wasser-Agaragar (3 Teile Glycerin, 1 Teil Agaragar und 96 Teile dest. Wasser) sind vortreffliche elektive Nährböden für die in menschlichem Auswurf enthaltenen Tuberkelbacillen.

Vorbedingung des Gelingens der Versuche ist anhaltendes bzw. hochgradiges Erhitzen (Sterilisieren) der Nährböden.

2) Die dem Tuberkelbacillenwachstum günstigen Nährstoffe sind zum Teil im Auswurf, zum Teil im Nährboden enthalten.

3) Im allgemeinen muß der Nährboden alkalisch sein, und gibt es für jeden Auswurf einen bestimmten optimalen Alkaleszenzgrad des Nährbodens.

4) Im allgemeinen ist der Alkaleszenzgrad des Nährbodens der günstigste, der dem des zu prüfenden Auswurfs entspricht. Zur Feststellung des Alkaleszenzgrades genügt die Tüpfelmethode.

5) Im optimalen Nährboden läßt sich das Wachstum der Tuberkelbacillen nach 1—3 Tagen mittels Klatschpräparaten, nach 1—2 Wochen mittels schwacher Vergrößerung, später häufig schon mit bloßen Augen deutlich erkennen.

In dem Maße, als man sich von dem Optimum entfernt, verschlechtert sich das Wachstum der Tuberkelbacillen.

6) Der Nachweis der Tuberkelbacillen im Auswurfe gelingt mit Hilfe der unter 1 gedachten Nährböden sicherer als mit der mikroskopischen Untersuchung des Auswurfes, weil eine größere Menge Auswurf zur Untersuchung kommt, und es leichter ist, Kolonien nachzuweisen, als Bacillen. Das Tierexperiment zum Zwecke des Nachweises lebender Tuberkelbacillen im Auswurf ist auf diejenigen Fälle zu beschränken, in denen der Nachweis von Tuberkelbacillen mit dem neuen Verfahren nicht gelingt.

7) Die in frischem Auswurf enthaltenen Tuberkelbacillen sind entweder sämtlich oder doch nahezu sämtlich lebend und vermehrungsfähig.

¹⁾ Auszug aus der im Deutschen Archiv für klinische Medizin. Bd. LXXVII erschienenen Arbeit des Verf. „Die Bedeutung des Auswurfs als Nährboden für den Tuberkelbacillus“.

8) Wie es im optimalen Nährboden zur schnellen Entwicklung von Tuberkelbacillenkolonieen im Auswurf kommt, wird dies erst recht im menschlichen Körper stattfinden können, namentlich wenn tuberkelbacillenhaltige Auswurftröpfchen oder -stäubchen sich in stagnierendem Bronchialschleim Gesunder einnisten, und der Bronchialschleim dieselbe oder nahezu dieselbe Alkaleszenz besitzt, wie der Auswurf, dem das infizierende Tröpfchen oder Stäubchen entstammte.

Hieraus ergibt sich eine teilweise Erklärung der sogenannten Disposition.

9) Hieraus erklärt es sich auch mindestens zum Teil, warum die Lungentuberkulose mit Vorliebe gerade dort beginnt, wo es naturgemäß am ehesten zu Stockung von Bronchialschleim kommt.

10) Die von Birch-Hirschfeld und Schmorl beschriebenen primären Bronchialschleimhauttuberkulosen sind mindestens zum Teil sekundäre Erscheinungen, entstanden durch Uebergreifen der im Bronchialschleim zur Entwicklung gekommenen Tuberkelbacillenkolonieen auf die Schleimhaut.

11) Die Wertigkeit des Bronchialschleimes als Nährboden für den Tuberkelbacillus ist sehr verschieden. Schleim mit zahlreichen Bacillen, Bacillenhaufen und -kolonieen (Zöpfen) und schwach alkalischer Schleim enthalten meist verhältnismäßig reichlichen Nährstoff für den Tuberkelbacillus.

Tröpfchen solchen Auswurfs sind als besonders virulent anzusehen.

Aus der Menge des vorhandenen Nährstoffs erklärt sich auch zum Teil der Bacillenreichtum gewisser Auswürfe.

12) Warum es in dem einen Falle von Infektion mit Tuberkelbacillen nur zu lokalen, der Heilung zugängigen tuberkulösen Herden, im anderen Falle zur Generalisierung der Tuberkulose kommt, erklärt sich zum Teil daraus, daß im ersten Falle das eingeatmete tuberkelbacillenhaltige Tröpfchen oder Stäubchen bei dem langsamen Wachstum der Tuberkelbacillen wieder ausgehustet wird, oder der Körper genügend Zeit hat, Schutzvorkehrungen zu treffen, die die Generalisierung der Tuberkulose verhindern.

Hieraus dürfte es sich auch erklären, daß von Menschen stammende Tuberkelbacillen im Rinde nur lokale Tuberkulose erzeugt, und umgekehrt. Jedenfalls ist der Bronchialschleim und der Inhalt von Kavernen und tuberkulösen Drüsen beim Rinde bei weitem alkalischer als beim Menschen. Vielleicht gelingt es durch allmähliches Heranzüchten vom Menschen herstammender Tuberkelbacillen in immer alkalischeren Nährboden schließlich die Tuberkelbacillen so virulent für das Rind zu machen, daß sie generalisierte Tuberkulose erzeugen, und umgekehrt.

Sollte sich diese Vermutung bestätigen, so wäre es angezeigt, auch an anderen pathogenen Keimen Untersuchungen anzustellen, ob mit der Züchtung in verschiedenen alkalischen Nährböden eine Aenderung der Virulenz eintritt.

Es erübrigt, im großen festzustellen, wie sich während bestimmter Zeiträume die chemische Beschaffenheit und namentlich die Reaktion des Auswurfs Gesunder und Tuberkulöser verhält, wie sich in dieser Hinsicht verschiedene Teile ein und desselben Auswurfs verhalten, inwieweit der Bronchialschleim Gesunder geeignet ist, im Auswurf Tuberkulöser enthaltene Tuberkelbacillen zur Vermehrung zu bringen, und welche Bedeutung der Bronchialschleim und das verschiedene Verhalten

desselben hinsichtlich seines Nährwertes für die Tuberkelbacillen für die Tuberkulose hat. Diesen Fragen näher zu treten, dürfte Aufgabe der Kliniken für innere Krankheiten sein. Endlich dürfte die Verwendbarkeit der auf verschiedenen alkalischen Nährböden gezüchteten Tuberkelbacillenkulturen zu Immunisierungszwecken einer eingehenden Prüfung wert sein.

Nachdruck verboten.

Methodik der Züchtung der Tuberkelbacillen aus menschlichem Auswurf.

Von Bezirksarzt Dr. W. Hesse in Dresden.

Die Züchtung gelingt dadurch, daß man die Begleitbakterien ausschaltet (elektiver Nährboden) und dem Nährboden dieselbe Alkaleszenz verleiht, die der zu untersuchende frische Auswurf besitzt (optimales Wachstum der Tuberkelbacillen).

A. Probeentnahme.

Man läßt den Kranken aus der Tiefe der Brust hervorgebrachten Schleim, womöglich ohne Speichel, in ein steriles Deckelglas spucken. Von dem Auswurf wird ein etwa linsengroßer Teil mittels Platinöse auf der Nährbodenoberfläche (Petri-Schalen) in 20—30 kleine Flöckchen zerzupft.

B. Nährboden.

1 Teil Agaragar
3 Teile Glycerin
96 „ dest. Wasser

werden nach dem Filtrieren in 50 ccm fassende Reagiergläser aus widerstandsfähigem, kein Alkali abgebendem Glas, z. B. Borosilikatglas 59 III des Glaswerkes Schott u. Gen. in Jena, verfüllt, so daß jedes Glas genau 20 ccm Nährboden enthält.

Die mit Nährboden versehenen Gläser müssen, wenn der Versuch sicher gelingen soll, etwa 3 Stunden lang strömendem Dampf oder etwa 1 Stunde lang überhitztem Dampf im Autoklaven (2 Atmosphären Ueberdruck) ausgesetzt werden (Assimilierbarmachung des Nährbodens).

C. Versuch.

Man verflüssigt in Reagiergläsern fest gewordenen Nährboden durch Einstellen in kochendes Wasser und kühlt denselben im Wasserbade von 40° C ab. Nachdem man durch Verbringen eines Flöckchens Auswurf auf rotes Lackmuspapier die Alkaleszenz des Auswurfes festgestellt, gibt man zu dem Reagierglas, das man benutzen will, so viel sterile 1/10-Normalkalilauge, bis man durch Tupfen auf Lackmuspapier dieselbe Bläue erhält, die das Sputumflöckchen anzeigte (optimale Alkaleszenz). Hierauf wird der Nährboden in eine Petri-Schale ausgegossen.

Einfacher ist folgendes Verfahren: Man gibt in 6 Reagiergläser je 20 ccm destilliertes Wasser, setzt

dem ersten	0
„ zweiten	0,2
„ dritten	0,5
„ vierten	1,0
„ fünften	2,0
„ sechsten	5,0

ccm $\frac{1}{10}$ -Normalkalilauge zu, und bringt aus jedem Glase 1 Tröpfchen des Gemisches auf einen Streifen Lackmuspapier. Eines der 6 Tröpfchen wird das Lackmuspapier ungefähr ebenso bläuen wie das Sputumflöckchen und anzeigen, wieviel Alkali dem Nährboden zuzusetzen ist, damit derselbe annähernd die Reaktion des Sputums erhält. Empfehlenswert ist auch der Weg, daß man 6 Agaragarröhrchen von vornherein 0, 0,2, 0,5 . . $\frac{1}{10}$ -Normalalkali zusetzt und die damit erhaltenen 6 Platten impft. Auf diese Weise erhält man unter allen Umständen eine Platte, auf der die Tuberkelbacillen optimal wachsen. Unter Umständen, z. B. für das Studium der Begleitbakterien, empfiehlt sich der Zusatz kleiner Mengen von Nährstoff Heyden oder Traubenzucker (0,1 Proz.) zum Nährboden.

Die geimpften Petri-Schalen werden mit dem Nährboden nach oben in den Brütöfen eingestellt, nachdem zwischen Schale und Deckel ein Streifen Asbestpappe eingeklemmt und die Doppelschale mittels Guttaperchaband abgedichtet wurde. Nach 1—2 Tagen läßt sich das Wachstum der Tuberkelbacillen mikroskopisch in Klatschpräparaten sicher nachweisen.

Zu dem Zweck verfährt man so, daß man ein steriles Deckgläschen über die Oeffnung eines Reagiergläschens legt und von unten her vorsichtig an die Nährbodenoberfläche da andrückt, wo sich ein Sputumflöckchen befindet. Wenn man die Petri-Schale etwas neigt und das Deckgläschen an dem abhängigen Rande mittels Platinöse vom Nährboden abhebelt, bleibt dasselbe mit dem oberen Rande am Nährboden hängen und kann mittels Cornetscher Zange leicht entfernt werden.

Nach einigen Züchtungstagen sind die Tuberkelbacillenkolonieen mittels schwacher Vergrößerung, nach einigen Wochen mit den bloßen Augen deutlich zu erkennen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die verschiedenen Sedimentierverfahren zum Nachweise von Tuberkelbacillen.

Ausgeführt durch Apotheker Dr. Carl Dilg,
Assistent am hygien.-chem. Laboratorium Marpmann, Leipzig.

Mit 3 Figuren.

Im nachfolgenden gestatte ich mir, eine Reihe von Versuchen zu veröffentlichen, welche zu wesentlich neuen Gesichtspunkten in Bezug auf das Sedimentieren kleinster fester Teilchen geführt haben. Diese Untersuchungen werden beweisen, daß bei den seitherigen Verfahren große Ungenauigkeiten vorkommen. Im Anschlusse an diese Untersuchungen werde ich die Art und Weise besprechen, wie derartige Fehler zu vermeiden sind.

Bereits im Jahre 1886 schlug Biedert¹⁾ ein Sedimentierverfahren vor, um in Sputis vereinzelt Tuberkelbacillen nachzuweisen. Derselbe kochte 5 ccm Sputum mit 2 Eßlöffeln Wasser und 4—8 Tropfen Kali- oder Natronlauge 2 Stunden lang unter fortwährendem Umrühren auf dem Sandbade und setzte allmählich noch einige Eßlöffel Wasser

1) Berl. klin. Wochenschr.

hinzu, bis der größte Teil des Sputums aufgelöst und eine homogene Flüssigkeit entstanden war. In dem zurückbleibenden Sediment, dessen Bildung und Vervollständigung man durch Zentrifugieren beschleunigen kann, sammeln sich dann die spezifisch schwereren Tuberkelbacillen an und sind, selbst wenn sie nur spärlich vorhanden sind, in demselben mit Sicherheit nachzuweisen.

Im Jahre 1889 beschrieb Stroschein¹⁾ folgendes Sedimentierverfahren: 5 ccm Sputum werden mit der doppelten Menge einer im Verhältnis von 1 : 3 stehenden Mischung von Borax-Borsäurelösung und Wasser eine Minute lang energisch geschüttelt. Nach 24—48 Stunden hat sich die Flüssigkeit abgesetzt und man kann im Sediment event. vorhandene Tuberkelbacillen nachweisen.

Van Ketel²⁾ schüttelt 100 ccm Wasser, 6 ccm verflüssigte Karbolsäure und 15 ccm Auswurf eine Minute lang stark, läßt dann die Mischung 24 Stunden lang in einem Spitzglase absetzen und untersucht das Sediment auf Tuberkelbacillen.

1894³⁾ und 1895⁴⁾ veröffentlichte Spengler folgende Methode: Man versetzt das zunächst alkalisch gemachte Sputum mit Pankreatin und überläßt es dann 24 Stunden bei Bruttemperatur der Verdauung. Die Zellkerne und alle Bakterien, also auch die Tuberkelbacillen, sind dann noch unverdaut im Sediment enthalten und leicht nachzuweisen.

1898 gaben d'Arrigo und Stampacchia⁵⁾ eine ähnliche Methode an, um wenige in einem Sputum vorhandene Tuberkelbacillen, die durch große Schleimmassen verdeckt und der Färbungsflüssigkeit nicht zugänglich sind, leicht zur Auffindung zu bringen: In ein reines Reagiergläschen werden 4—5 Sputumballen gebracht und das Gläschen bis reichlich zur Hälfte mit Ranvierschem Drittelalkohol angefüllt; sodann wird das Röhrchen, das mehrmals umzuschütteln ist, mit einem Wappfropf verschlossen und 24 Stunden lang im Brutschrank bei 37° C oder 3 Stunden lang bei 50° C gehalten. Der Drittelalkohol zerstört den Schleim und fixiert die Zellen und Bacillen, welche auf den Boden des Röhrchens sinken.

Eine viel gebrauchte Methode ist diejenige von Dahmen (verbessert von Heim), welche auch in dem bekannten Lehrbuche von Professor Dr. Lehmann und Dr. Rud. Neumann angegeben wird: Man kocht das ganze Sputum in einem Becherglase im Dampfptopf 15—20 Minuten lang, läßt erkalten, gießt die opaleszierende Flüssigkeit ab und verwendet dann den krümeligen Bodensatz zu Ausstrichpräparaten.

Diese kurze Zusammenstellung dürfte genügen, um den Beweis zu liefern, daß bei sämtlichen Sedimentierungsverfahren Niemand ebenso wenig auf die spezifische Schwere der verschiedenen Sputa als auch auf das spezifische Gewicht des Tuberkelbacillus Rücksicht genommen hat. Wir finden sogar recht oberflächliche Angaben in Bezug auf die Art der Verdünnung und die Menge des Verdünnungsmittels. Man sieht, daß es den Autoren nur darauf angekommen ist, die Sputa zu homogenisieren und daß der eine der Ansicht des anderen gefolgt ist, daß nämlich die Tuberkelbacillen stets schwerer sein müßten, als die aufgelösten Sputa oder als Harn oder als Eiter.

1) Mitt. aus Bremers Heilanstalt.

2) Arch. f. Hygiene. Bd. XV.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII.

4) Dtsch. med. Wochenschr.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII.

Eine einfache logische Betrachtung muß aber jeden, der sich kritisch mit diesen Sedimentierungsverfahren beschäftigte, zu der Ueberzeugung führen, daß alle seither bekannten Verfahren unzuverlässig sind und ungenaue Resultate ergeben müssen.

Es handelt sich doch bei jedem Sedimentieren um eine möglichst quantitative Trennung spezifisch differenter Substanzen voneinander, und es wird jeder Bakteriologe bereits die Erfahrung gemacht haben, daß in den sedimentierten Sputis nur ausnahmsweise eine Anreicherung der Tuberkelbacillen im Sediment stattfindet. Es hätte aber jeder sofort den Nachweis liefern können, daß die gesuchten Tuberkelbacillen häufiger oben oder auch in den mittleren Schichten zu finden gewesen wären, wenn sich betr. Experimentator die Mühe genommen hätte, die einzelnen Schichten getrennt zu untersuchen.

Die meisten Experimentatoren werden die Beobachtung gemacht haben, daß bei einem Sputum mit wenig Tuberkelbacillen durch die Sedimentierung nur ausnahmsweise ein sicherer Nachweis der Tuberkelbacillen zu erzielen ist. Wie bemerkt, führt uns eine logische Betrachtung dahin, daß 1) die Sputa verschiedener Personen und aus verschiedenen Körperhöhlen stammend, doch wohl nicht gleiche spezifische Gewichte haben können, 2) auch die Tuberkelbacillen, je nachdem sie frisch und kräftig oder ausgesogen und abgestorben (im Evolutionsstadium) sind, verschiedene spezifische Gewichte haben werden, 3) die Tuberkelbacillen nur dann in den Bodensatz gehen können, wenn die Flüssigkeit leichter und der Tuberkelbacillus schwerer ist.

Diejenigen Autoren, welche mit solchen Tuberkelbacillen arbeiten, die kräftig, dick und schwer sind, werden bei ihren Versuchen die Tuberkelbacillen im Bodensatze finden müssen.

Das Bild der Tuberkelbacillen ist ein sehr variables und es ist bekannt, daß bereits von verschiedenen Seiten die Vermutung ausgesprochen wurde, daß bei der Phthise verschiedene Arten von Tuberkelbacillen vorkommen dürften. Man findet häufig sehr dünne zarte Stäbchen, zuweilen lang und verzweigt, ebenso dickere Stäbchen, die beim Färben mit Karbolfuchsin nur einen rosa Farbenton annehmen und endlich solche Tuberkelbacillen, die sich bei der Färbung gesättigt tief rot tingieren und durchweg komplette Stäbchen ohne Hohlräume und ohne Körnungen darstellen. Daß diese verschiedenartigen Tuberkelbacillen verschiedene spezifische Gewichte haben werden, läßt sich wohl voraussetzen und deshalb habe ich mir meine Aufgabe zunächst dahin gestellt, die spezifischen Gewichte der Tuberkelbacillen sowohl in den Sputis als auch in Reinkultur zu untersuchen, sowie die spezifischen Gewichte der verschiedenen Sputa festzustellen unter Zuhilfenahme verschiedener teils neuer Methoden. Exakte Angaben über die spezifischen Gewichte der verschiedenen menschlichen Sputa habe ich in der mir zugänglichen Literatur nicht finden können — ebensowenig über die physikalischen Eigenschaften der Auswurfstoffe bei den verschiedensten Krankheiten. Dagegen sind über die spezifischen Gewichte anderer menschlicher und tierischer Exsudate und Transsudate folgende Angaben von verschiedenen Autoren gemacht (s. Tabelle p. 390).

Diese Tabelle bringt uns den Beweis für die weit auseinandergehenden spezifischen Gewichte betr. Flüssigkeiten.

Im Anschluß hieran bemerke ich, daß das spezifische Gewicht des pathologischen Auswurfes nach meinen Untersuchungen zwischen dem Minimalgewicht 1,0004 tuberkelbacillenhaltig bei 21,5° C und dem

Materie	Untersucher	Spez. Gew.	Literatur
Harn	nach versch. Angaben	1,010—1,040	Hoppe-Seyler
Frauenmilch	" " "	1,025—1,035	Brestowski
Kuhmilch	" " "	1,025—1,040	"
Ziegenmilch	" " "	1,033	"
Schafmilch	" " "	1,041	"
Stutenmilch	" " "	1,032	"
Büffelmilch	" " "	1,034	"
Menschenblut	Schmidt, Nasse	1,050—1,062	Wagners Handbuch der Physiologie. Bd. I. p. 82. Untersuch. Erlangen 1845
Blut Schwein	Becquerel, Rodier	1,060	Allgemeine Biologie von Hoppe-Seyler, § 213, p. 144
" Katze	Nasse	1,0545	
" Ziege	"	1,0425	
" Gans, Huhn	"	1,0445	
" Truthahn	"	1,065	
" Frosch	Davy	1,040	
" Fische	"	1,035 (i. Mitt.)	
Eiter, gesunder	Cohnheim	1,031—1,033	
menschl. Galle	varia	1,0105—1,0107	Nozioni di Zoochimica v. Icilio Guareschi, Torino
" Darmsaft	"	1,0107	Hoppe-Seyler, § 137, p. 273
" Magensaft	"		
normal	"	1,001—1,010	Brestowski
Giftdrüs. d. Klapperschlange	Mitchell	1,004	Weier-Mitchel, Americ. med. chir. Rev. V. p. 269. March 1861
Giftdrüse d. Brillenschlange	Short	1,046	The Lancet I. No. 18 u. 20
Speichelflüssigkeit, menschl. normale	varia	1,002—1,006	Hoppe-Seyler, 1877. p. 186
Submaxillaris-Spch. menschl.	"	1,002—1,003	" " 1877.
Parotis-Speichel, menschl.	"	1,0061—1,0088	" " p. 199. § 95

Maximalgewicht 1,2242 tuberkelbacillenfrei bei 21,5° C liegt. Diese Zahlen sind aus der nachfolgenden Untersuchungsreihe nur vorweggenommen, um vorstehende Tabelle zu ergänzen. Dieses Ergebnis meiner Sputumuntersuchungen zeigt aber auch, in welchen weiten Grenzen die spezifischen Gewichte der Sputa sich bewegen. Weil nun derartige Bestimmungen doch gewiß nicht nach einheitlicher Methode überall ausgeführt werden, so sehe ich mich veranlaßt, die von mir angewandten Methoden des näheren zu beschreiben.

Vorauszuschicken ist hierbei, daß 1) die Densitätsmessung nur mit vollständig luftfreiem und möglichst wenig unverändertem Schleim ausgeführt werden muß, um ein genaues Resultat zu erzielen und daß 2) die Resultate auf verschiedenem Wege und durch verschiedene Methoden kontrolliert werden müssen, um als exakt hingestellt werden zu können.

Methoden I.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes durch die Mohrsche Wage.

Es wurde frisches Sputum in einen langen Cylinder gefüllt, durch die Luftpumpe evakuiert und längere Zeit im Vakuum gehalten. Dieses vollständig luftfrei gemachte Sputum diente sodann direkt zur Wägung durch den Mohrschen Senkkörper.

Folgendes Resultat wurde mit einem Sputum, welches als No. 1 bezeichnet werden soll, erhalten und beziehen sich auch die weiteren Angaben der anderen Methoden auf dieses ein- und dasselbe Sputum No. 1.

Sputum No. 1.

Spezifisches Gewicht = 1,0190 bei 21,5° C entlüftet
 " " = 0,9680 " 21,5° C nicht entlüftet.

Methode II.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes durch Kapillarpyknometer.

Diese Bestimmung des spezifischen Gewichtes machte ich nach der, für meine Zwecke modifizierten Methode der Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Blutes nach Schmalz, welcher diese von ihm benutzte Methode im Deutschen Archiv für klinische Medizin bekannt gegeben hat.

Eine sehr dünnwandige Glasröhre wurde so ausgezogen, daß der mittlere Teil weit und die beiden Enden auf ca. 5 cm Länge zur feinsten Kapillare verjüngt waren. Diese Form des Kapillarpyknometers, wie selbes von Schmalz genannt wurde, wurde gewählt, weil durch die haarfeinen Oeffnungen die aufgesogene Flüssigkeit nicht mehr ausfließen konnte. Das Kapillarpyknometer wurde mit destilliertem Wasser gereinigt, mit absolutem Alkohol entwässert, mit Aether von dem noch anhaftenden Alkohol befreit und getrocknet. Auf der chemischen Wage, welche 1/2 mg genau zu wägen gestattet, wird das Kapillarpyknometer gewogen, dann mit Wasser gefüllt und nachdem selbes abgetrocknet, wieder gewogen. Nachdem das Kapillarpyknometer wiederum mit Alkohol und Aether ausgetrocknet war, konnte zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Sputums geschritten werden.



Fig. 1.

Ist das Kapillarpyknometer mit Sputum gefüllt, so wird es nunmehr gewogen und dann das spezifische Gewicht des Sputums berechnet, wie folgt:

Gewicht des leeren Kapillarpyknometers	0,6614
" des Kapillarpyknometers + Wasser	0,9380
Demnach beträgt Gewicht des Wassers (y)	0,2766
Gewicht des Kapillarpyknometers + Sputum	0,9434
Demnach Gewicht des Sputums (x)	0,2820
Das spezifische Gewicht des Sputums beträgt demnach:	

$$\frac{x}{y} = 1,0195$$

Methode III.

Als die einfachste Methode, das spezifische Gewicht des Sputums zu bestimmen, schlug ich nunmehr die für meine Zwecke brauchbare Methode ein, welche Hammerschlag seiner Zeit benutzte, um das spezifische Gewicht des Blutes zu bestimmen.

Ich fertigte mir eine Mischung von Chloroform und Benzol ää part.

aeq. resp. ich gab zuerst, um den Tropfen Sputum möglichst unverändert zu erhalten, diesen in Benzol. Sofort sinkt er zu Boden und nun gab ich langsam Chloroform und Benzol unter vorsichtigem Mischen und Umschütteln zu, bis der Tropfen in irgend einer Schicht (Mitte) suspendiert blieb, d. h. schwimmt. Jetzt bestimme ich mittelst der Mohrschen Wage das spezifische Gewicht der Flüssigkeit, welches dann auch dasjenige des Sputums ist.

Dabei zeigte sich jedoch, daß die von dem Sputum eingeschlossenen Luftbläschen auch hier das spezifische Gewicht beeinflussen und deshalb durch Erwärmen entfernt werden mußten. Sputum I ergab folgendes Resultat:

- a) Spezifisches Gewicht = 1,0192 bei 21,5° C entlüftet,
 b) " " = 0,9693 " 21,5° C nicht entlüftet.

Methode IV.

In gleicher Weise wurde das Sputum mit Alkohol und Chloroform behandelt. Bei dieser und der folgenden Methode V war eine Entlüftung überflüssig, da der Alkohol sowohl als auch das bei Methode V benutzte Aceton die Luft aus dem Sputum bei längerem Stehen völlig vertreibt.

Sputum I ergab ein spezifisches Gewicht von 1,0245 bei 21,5° C.

Methode V.

Die Behandlung des Sputums mit Aceton und Chloroform ergab ein spezifisches Gewicht von 1,0195 bei 21,5° C.

Da diese Resultate sich auf ein und dasselbe Sputum beziehen und die Bestimmung bei gleicher Temperatur (21,5° C) vorgenommen wurden, so habe ich, unter Zugrundelegung der pyknometrischen Bestimmung als normal, die mit dieser übereinstimmende Methode mit Aceton und Chloroform bevorzugt. Zu bemerken ist noch, wie folgende Zusammenstellung ergibt, daß beim Mischen von Sputum mit Alkohol, durch den Alkohol aus den wässerigen Schleimstoffen unter Koagulation dieser, das vorhandene Wasser extrahiert und daß demgemäß ein zu hohes spezifisches Gewicht des Sputums erhalten wird.

Ebenso zeigt die Benzolmischung, daß wegen der schweren Vertreibung der letzten Luftteilchen durch diese Methode ein zu geringes Gewicht erhalten werden muß.

Tabelle II mit Sputum No. I.

Methode	Temperatur	entlüftet nicht entlüftet	Spezifisches Gewicht
a) Mohrsche Wage	21,5° C	entlüftet	1,0190
	21,5° "	nicht entlüftet	0,9680
b) Kapillarpyknometer	21,5° "	" "	1,0195
c) Benzolchloroform	21,5° "	" "	0,9693
	21,5° "	entlüftet	1,0192
d) Mischchloroform	21,5° "	nicht entlüftet	1,0245
e) Acetonchloroform	21,5° "	" "	1,0195

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß die Acetonchloroformmethode das gleiche Resultat liefert, wie das Kapillarpyknometerverfahren, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß das Aceton wohl die Luft zum größten Teile aus dem Sputum vertreibt und die gleichen koagulierenden Eigenschaften wie der Alkohol, nicht aber dessen wasserentziehende Eigen-

schaft besitzt. Alle vorhin gegebenen Zahlen beziehen sich auf das Sputum No. I, welches ich als Normalsputum angenommen habe, um die Zuverlässigkeit der einzelnen Methoden zu prüfen. Die weiteren Ausführungen aus meinen Untersuchungen sollen beweisen, daß die verschiedenen Sputa je nach ihrer Herkunft, Beschaffenheit, Krankheitsstadium etc. ganz bedeutend in ihren spezifischen Gewichten differieren.

Sputum	Spezifisches Gewicht	Temperatur	Beschaffenheit	Methode V	Ursprung
No. 2	1,1009	21,5° C	Keine T.B.C.	V	Rachenschleim
" 3	1,1230	21,5° "	" "	"	Mundspeichel, fibrinöser
" 4	1,2242	21,5° "	" "	"	Bronchialkatarrh
" 5	1,13365	21,5° "	" "	"	Rachenkatarrh
" 6	1,0160	21,5° "	" "	"	do.
" 7	1,0440	21,5° "	" "	"	do.
" 8	1,001	21,5° "	" "	"	Rachenschleim
" 9	0,9290	21,5° "	" "	"	Mundspeichel
" 10	1,009	21,5° "	" "	"	do.
" 11	1,004	21,5° "	" "	"	do.
" 12	1,2224	21,5° "	T.B.C.-haltig	"	Lungenschleim, Kehlkopf und Rachen
" 13	1,003	21,5° "	" "	"	Lungenschleim, Kehlkopf u. Rachen verfault
" 14	1,010	21,5° "	" "	"	do.
" 15	0,9590	21,5° "	" "	"	do.
" 16	1,0113	21,5° "	" "	"	do.
" 17	1,0195	21,5° "	" "	"	do.
" 18	1,0010	21,5° "	" "	"	do.
" 19	1,0122	21,5° "	" "	"	do.
" 20	1,0004	21,5° "	" "	"	do.
" 21	1,0195	21,5° "	" "	"	Lungenschleim
" 22	1,024	21,5° "	" "	"	do.

Die erhaltenen Resultate bestätigen vollständig meine Voraussetzung über die Verschiedenheit der spezifischen Gewichte der Sputa, und kann ich nunmehr dazu übergehen, die Resultate, welche durch das Sedimentierverfahren erhalten wurden, zu beschreiben:

Die Sedimentierung der von mir untersuchten Sputa und Tuberkelsputa bewerkstelligte ich mit dem neuen Zentrifugalapparate von Otto



Fig. 2.

Richter-Leipzig, welchen Apparat ich, da er vielleicht noch vielen unbekannt sein dürfte, etwas näher beschreiben will. Der neue Apparat besteht im wesentlichen aus der Zentrifuge und den Prüfungsgläsern. Derselbe ist den Kreiselzentrifugen, welche bisher für Fettbestimmungen meistens Verwendung fanden, nachgebildet, ihnen aber in Bezug auf Leistungsfähigkeit und Vielseitigkeit in der Anwendung bedeutend überlegen.

Der Zentrifugierteller, welcher zur Aufnahme der Zentrifugiergläser bestimmt ist, rotiert in einer soliden, während der Rotation geschlossenen Trommel von vernickeltem Hartmessing. Durch diese einfache Vorrichtung wird der Luftwiderstand völlig vermieden, so daß man ohne jede Kraftanstrengung 5000—6000 Umdrehungen des Zentrifugiertellers in der Minute erreicht. Das Zentrifugiergut kann vor oder während der Rotation durch Unterstellen eines geeigneten Heizkörpers (Gas-, Spiritus- oder Petroleumbrenner) auf jeden gewünschten Wärmegrad erhitzt werden, wodurch die stationäre Trommel zugleich ein Luft- und Wasserbad ersetzt. Während der Rotation sorgt der Zentrifugierteller für gleichmäßige Wärmeverteilung und ein durch den Kopf des feststehenden Deckels in die stationäre Trommel reichendes Thermometer gestattet ein ständiges Ueberwachen der Temperatur auch während der Rotation. Durch Lösen einer einzigen Mutter kann man sowohl den Zentrifugierteller wie auch die stationäre Trommel abnehmen und ebenso leicht wieder solide befestigen. Ein besonderer Vorteil des Apparates ist der, daß die Zentrifugiergläser auf dem Teller nicht von den bekanntlich nur zu leicht versagenden Federklammern gehalten werden, sondern von solid angeordneten kleinen Messingröhrchen, die ein recht bequemes Einlegen und Herausnehmen der Proben gestatten. Der Antrieb der Zentrifuge erfolgt mittels einer abnehmbaren Kurbel, die bei Rechtsdrehung greift, bei Linksdrehung mit Gegendruck bremst. Man kann die Kurbel während der Rotation abnehmen oder anstecken, so daß man die Umdrehungsgeschwindigkeit steigern kann, während die Zentrifuge rotiert. Es ist überraschend, mit welcher Leichtigkeit man mit dieser kleinen Kurbel von nur 100 mm Schenkellänge den Zentrifugierteller in eine so starke Rotation versetzen kann.

Die von mir benutzten Prüfgläser bestehen aus kurzen flaschenförmigen unten verjüngten und birnförmig gekröpften graduierten Zentrifugiergläsern, welchen ich beiläufig folgende Form und Einteilung geben ließ:

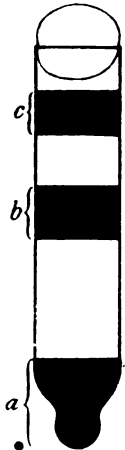


Fig. 3.

Die im Cliché (Fig. 2) neben dem eigentlichen Zentrifugierapparate abgebildeten Gläser etc. dienen zur Fettbestimmung der Milch. Selbstredend kann die Zentrifuge ebenfalls zum Sedimentieren von Harn etc. dienen.

Sedimentiersuch zum Nachweise der T.B.C.
(Tuberkelbacillen) in der oberen, mittleren oder unteren Schicht der Flüssigkeit.

Die Sputa wurden unter Zusatz von einigen Tropfen Ammoniak homogenisiert, mit Wasser verdünnt und dann das spezifische Gewicht dieser Verdünnungen durch die Mohrsche Wage bestimmt. Hierzu bemerke ich, daß es sich um Fundamentalversuche handelte, bei denen ein umständlicher Weg eingeschlagen werden mußte. Ich werde jedoch

am Schlusse meiner Arbeit eine kurze Methode beschreiben, welche, für die Praxis ausgearbeitet, sich sowohl durch ihre Einfachheit als auch durch die erzielten exakten Resultate ausgezeichnet.

Versuch 1.

Sputum No. 221 hat T.B.C., spez. Gew. 1,0113 bei 21,5° C.

Die homogenisierten Sputa wurden in den vorstehend beschriebenen graduierten Sedimentiergläsern, bei welchen *a* als untere, *b* als mittlere und *c* als oberste Sedimentschicht angenommen wurde, sedimentiert. Zum Nachweise der T.B.C. wurde durch Kapillarpipette eine Probe der obersten Schicht *c*, dann der mittleren Schicht *b* und endlich des Bodensatzes *a* auf je einen Objektträger gebracht.

Nachdem die Präparate lufttrocken geworden, legte ich selbige in verdünnte Essigsäure, um die Eiweißsubstanzen auszuschneiden und das Alkali abzustumpfen. Ich nahm Acid. acet. dil., weil dasselbe leicht flüchtig ist, beim Trocknen verdunstet und dadurch die nachfolgende Karbofuchsinfärbung nicht beeinflusst.

Resultat: bei *c* angehäuften T.B.C.,
 „ *b* vereinzelte T.B.C.,
 „ *a* gar keine T.B.C., dagegen Streptokokken, Kokken, Mundhöhlenbacillen, Rachen- etc. Epithel.

Versuch 2.

Sedimentierung No. 221 221II. T.B.C.-haltig.

Sputum No. 221 mit Aq. dest. verdünnt bis zu einem spezifischen Gewicht von 1,004 bei 21,5° C.

Resultat: bei *a* viele T.B.C.,
 „ *b* wenige T.B.C.,
 „ *c* keine T.B.C., wohl aber Häute.

Versuch 3.

Sputum 222. Durch Fäulnis sedimentiert. Spez. Gew. 1,005 bei 21,5° C.

Resultat: bei *a* T.B.C. in Menge,
 „ *b* } vereinzelte T.B.C. resp.
 „ *c* } Häute von T.B.C.

Versuch 4.

Sputum vom spez. Gew. 1,0195° mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,098 gebracht.

Resultat: bei *a* keine T.B.C.,
 „ *b* „ „
 „ *c* viele „

Versuch 5.

Sputum vom spez. Gew. 1,024 mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,097 gebracht.

Resultat: bei *a* keine T.B.C.,
 „ *b* „ „
 „ *c* viele „

Versuch 6.

Sputum vermittelt 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,099 gebracht.

Resultat: bei *a* keine T.B.C.,
 „ *b* „ „
 „ *c* viele „

Versuch 7.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,100 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 8.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,102 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 9.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,095 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c „ „

Versuch 10.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,10 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 11.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,08 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 12.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,15 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 13.

Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung auf das spez. Gew. 1,08 gebracht.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b „ „
„ c viele „

Versuch 14.

Sputum No. 223 mit Reinkultur von T.B.C. verrieben. Spez. Gew. 1,010 bei 20° C.

Resultat: bei a keine T.B.C.

„ b wenige T.B.C.
„ c sehr viele T.B.C.

Versuch 15.

Dasselbe Sputum No. 223, verdünnt mit Aqua destillata bis zum spez. Gew. 1,001 bei 20° C.

Resultat: bei a T.B.C in Menge

„ b wenige T.B.C.
„ c sehr schwach gefärbte Schläuche
und T.B.C.-Massen.

Tabelle III.
Ergebnisse vorstehender Versuche.

Spez. Gew.	Befund: oben c	Mitte b	unten a	Bemerkungen
1,001	Keine T.B.C.	T.B.C.-Reste (Evo-	T.B.C.-Reste	Sputum sehr T.B.C.-arm
1,002	„ „	lutionsstadium) keine T.B.C.	sehr vereinzelte T.B.C.	
1,007	„ „	„ „	T.B.C.	
1,008	im „Sputum“ nichts	gefunden, dann sedi-	mentiert	
1,008	—	—	wenige T.B.C.	
1,008	T.B.C.-Reste	T.B.C.	vereinzelte T.B.C.	
mit NaCl auf das spez. Gew. von 1,038 ge- bracht				
1,012	—	—	T.B.C.	sehr T.B.C.-arm
1,019	T.B.C.-Massen	T.B.C.-Massen	T.B.C. ganz ver- einzelt	
1,031	angehäufte T.B.C.	Schläuche u. Bac- Reste	minimal T.B.C. u. T.B.C.-Reste	
1,044	vereinzelte T.B.C.	T.B.C.	—	
1,0525	angehäufte T.B.C.	—	—	
1,0760	keine T.B.C.	wenige T.B.C.- Reste	viele T.B.C.	
1,0830	angereich. T.B.C.	—	—	
1,1200	„ „	—	—	
1,0113	angehäufte T.B.C.	vereinzelte T.B.C.	keine T.B.C.	
1,004	keine T.B.C.	wenige T.B.C.- Häute	viele T.B.C.	
1,005	Häute von T.B.C.	vereinzelte T.B.C.- Häute	T.B.C. in Menge	
1,098	viele T.B.C.	keine T.B.C.	keine T.B.C.	
1,097	„ „	„ „	„ „	
1,099	„ „	„ „	„ „	
1,102	„ „	„ „	„ „	
1,095	„ „	„ „	„ „	
1,100	„ „	„ „	„ „	
1,08	„ „	„ „	„ „	
1,15	„ „	„ „	„ „	
1,08	„ „	„ „	„ „	

Versuche zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes der T.B.C. in Sputum und in Reinkultur.

Wenn man das spezifische Gewicht der T.B.C. in den Sputis bestimmen will, so folgt aus der von mir angewandten Methode zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Auswurfes in Acetonchloroform, daß nach derselben Methode sich das spezifische Gewicht der T.B.C. ergeben muß, wenn die Bacillen in Gleichgewichtsschwebe sich befinden.

Zuerst müssen diejenigen Bacillen, welche in den Vorversuchen im mittleren Teile der sedimentierten Flüssigkeiten zu finden waren, genau das gleiche spezifische Gewicht haben, welches dieser Flüssigkeit eigen ist. Man braucht demgemäß nur die Gewichte der sedimentierten Proben zusammenzustellen, bei welchen unter dem Buchstaben b T.B.C. nachzuweisen waren.

Es sind dies folgende Zahlen: 1,0110—1,0760.

Aus diesen Daten ergibt sich ein geringes Schwanken des spezifischen Gewichtes und das Durchschnittsgewicht berechnet sich dann auf die Zahl 1,0435.

Um nun auch direkte spezifische Gewichte der T.B.C. festzustellen, wurden die trockenen Bröckelchen von Agarserum-Reinkulturen mit dem vorher besprochenen Aceton-Chloroform-Gemisch untersucht und hierbei folgende Zahlen erhalten:

Wage	Spez. Gewicht	Befund	Temp.
a) Mohrsche W.	1,0112	schwimmt in Mitte	21,5° C
b) " "	1,0150	" " "	21,5° C
c) " "	1,018	" " "	21,5° C
d) " "	1,0180	steigt T.B.C. in Vers. b) an die Oberfläche	21,5° C

Der zu Tage getretene Unterschied wird begründet a) durch das Alter der T.B.C. und die dadurch bewirkte mehr oder weniger große Austrocknung.

Nach meinen gesamten Untersuchungsergebnissen berechne ich das spezifische Gewicht der reinen T.B.C. schwankend zwischen 1,01—1,08.

Methode zum schnellen Nachweise von T.B.C.

nach meinem aus vorhergehenden Arbeiten gefolgerten Verfahren, welches den sicheren Nachweis der T.B.C. auch da ermöglicht, wo dieselben in verschwindend kleiner Menge in Flüssigkeiten enthalten sind.

In der Praxis handelt es sich fast ausnahmslos um den Nachweis der T.B.C. im Sputum, Eiter und Harn. Nachdem ich nun bewiesen habe, daß das spezifische Gewicht der T.B.C. in den Grenzen von 1,01 bis 1,08 schwankt, daß 2) das spezifische Gewicht des Auswurfes in den Grenzen von 0,9290 bis 1,2242 schwankt und daß demgemäß der Auswurf sehr oft schwerer sein dürfte als die T.B.C., Harn und Eiter dagegen meistens schwerer sind als T.B.C., so müssen bei Sedimentversuchen diese Bacillen in unverdünntem Harn oder Eiter fast immer in den oberen Schichten der zentrifugierten Proben gesucht werden. Beim Auswurf ist es aus den vorher angeführten Gründen zweifelhaft, in welchen Schichten sich die Bacillen ablagern, und um hier einen absolut sicheren Weg zu haben, bei dem die Bacillen stets in bestimmter Region gefunden werden müssen, so überlegte ich, ob es besser sei, die Bacillen in den oberen Schichten oder in den unteren Schichten abzuschneiden.

Es ist ja leicht, ein Sputum durch Zusatz einer geringen Menge von Salzlösung so schwer zu machen, daß die T.B.C. sich an der Oberfläche konzentrieren. Ebenso leicht ist es, ein Sputum durch Zusatz von Wasser und Alkohol so weit zu verdünnen, daß sämtliche T.B.C. nach unten wandern. Wir erhalten aber bei einer Konzentration wenig Flüssigkeit aus der gegebenen Menge Sputum und haben folglich mehr Aussicht, die T.B.C. durch das Zentrifugieren zu sammeln, als bei einer stark angewandten Verdünnungsmethode.

Der praktische Weg führt also dazu, den Auswurf mit Hilfe einiger Tropfen Ammoniak zu homogenisieren, dann mit einem gleichen Volumen 25-proz. Kochsalzlösung zu mischen und nun direkt auszuschleudern. Es sind hierbei alle weiteren Rechnungen ausgeschlossen, die Bestimmung des spezifischen Gewichtes ist überflüssig, weil eine derartige Mischung des Sputum mit 25-proz. NaCl-Lösung stets die erforderliche Schwere besitzt, welche nötig ist, daß die T.B.C. nach oben

wandern und dort nachzuweisen sind, da das spezifische Gewicht der Kochsalzlösung 1,190 beträgt. Die beim Eintrocknen auskristallisierenden Kochsalzkrystalle stören die Färbung nicht, wenn man nach folgendem Verfahren vorgeht.

Man nimmt durch ein Saugerröhrchen ca. $\frac{1}{2}$ ccm von der Oberfläche der zentrifugierten Probe ab und bringt dieselbe auf den mittleren Teil eines Objektträgers. Nachdem die Probe lufttrocken wurde, bringt man den resp. die Objektträger in 96-proz. Alkohol in einen Färbeparat nach R. Jung¹⁾, welcher letzterer sich für diesen Zweck vorzüglich eignet.

In diesem Apparat können die Objektträger stundenlang in Alkohol aufbewahrt bleiben! Man übergießt sie dann direkt aus dem Alkohol mit Karbolfuchsin, erwärmt 5 Minuten, spült mit Ebnerscher Lösung ab und überfärbt mit wässriger Neumethylenblaulösung. Auf dem Präparat sieht man dann die Stellen, auf denen Kochsalzkrystalle gelegen hatten, klar durchscheinend, weil das Kochsalz ausgelaugt ist.

Im übrigen bleibt die ganze Sputummasse als blauer Belag auf dem Objektträger in zusammenhängender Schicht und die T.B.C. geben sich durch ihre leuchtend rote Farbe leicht zu erkennen. Für die Praxis genügt dieses Verfahren, für weitere Versuche möchte ich jedoch noch auf einen kleinen Apparat aufmerksam machen, der unter dem Namen Sputum-Densimeter durch die Firma Otto Richter, Leipzig zu beziehen ist. Dieser Apparat ermöglicht es dem Praktiker, das spezifische Gewicht des Sputums in wenigen Minuten bequem zu bestimmen.

Das Sputum-Densimeter besteht aus einem ca. 4 cm langen becherförmigen Cylinder mit eingezogenem mittleren Teil, bei welchem sich die Marke für die Höhe des einzufüllenden Sputum befindet. Dieser Cylinder wird auf die Spindel eines Aërometers aufgesetzt.

Beim Gebrauche füllt man in den ausgetrockneten Cylinder durch eine Pipette mit Gummihut das Sputum bis zur Höhenmarke und versenkt den Apparat vorsichtig in einen Cylinder mit Aq. dest. von 15° C Temperatur. Es zeigt dann der Apparat — wie jeder Aërometer — das spezifische Gewicht der zu prüfenden Flüssigkeit an, denn der Apparat kann selbstverständlich nicht allein für Sputum, sondern für alle Flüssigkeiten gebraucht werden, besonders aber dann, wenn man zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes nur kleine Substanzmengen zur Verfügung hat.

Außerdem ist der Becher von infizierender Flüssigkeit leicht durch Einlegen in konzentrierte Schwefelsäure zu reinigen.

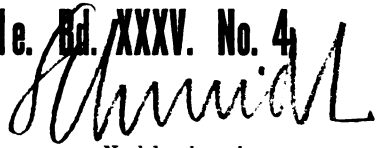
Nach vorstehendem, von mir ausgearbeiteten Verfahren wird nun schon seit längerer Zeit mit gleichguten Resultaten im hygienisch-chemischen Laboratorium Marpmann in Leipzig, wo ich auch vorliegende Versuche zum Abschlusse brachte, gearbeitet.

1) Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie und klin. Chemie. Bd. IX. Heft 3.

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

Inhalt.

- Abbott, A. C.** and **Gildersleeve, N.**, On the branching occasionally exhibited by *Bacillus diphtheriae*, p. 273.
- Bandi, Ivo**, Gelbfieber und Mosquitos, p. 323.
- Bettencourt, Annibal, Kopke, Ayres, de Rezende, Gomes und Mendes, Correia**, Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit. (Schluß.), p. 316.
- Centanni, Eugenio**, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. (Schluß.), p. 362.
- Dilg, Carl**, Untersuchungen über die verschiedenen Sedimentierverfahren zum Nachweise von Tuberkelbacillen, p. 387.
- Fichtner**, Beiträge zur Züchtung des Influenzabacillus, p. 374.
- Hektoen, Ludvig**, Die Wirkung gewisser ionisierbarer Salze auf die Lysine im menschlichen Serum, p. 357.
- Hesse, W.**, Ein neuer elektrischer Nährboden für Auswurf-Tuberkelbacillen, p. 384.
- —, Methodik der Züchtung der Tuberkelbacillen aus menschlichem Auswurf, p. 386.
- Kedrowski, W. J.**, Experimentelle Erfahrungen über Lepraempfindungen bei Tieren, p. 368.
- Lignières, J. et Spitz, G.**, Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose, p. 294.
- v. Linstow**, Neue Helminthen, p. 352.
- Preiss, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen), p. 280.
- Rievel und Behrens**, Beiträge zur Kenntnis der Sarcosporidien und deren Enzyme, p. 341.
- Simon, F. B.**, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken, p. 308.
- Steiger, Paul**, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege, p. 326.



Nachdruck verboten.

Robert Koch.

Zum 60. Geburtstage.

Von F. Loeffler.

Am 11. Dezember d. J. begeht der Begründer der modernen Bakteriologie, Robert Koch, unser aller Lehrer und Meister, seinen 60. Geburtstag. Seine Werke sind in den Annalen der Wissenschaft mit goldenen Lettern verzeichnet. Möge es gleichwohl seinem ersten Schüler und späteren Mitarbeiter vergönnt sein, in dankbarster Verehrung zu diesem Tage, der einen gewissen Lebensabschnitt bedeutet, mit kurzen Strichen die Lebensarbeit des großen Forschers in zusammenfassender Weise darzulegen, um den Aerzten, aus deren Mitte er hervorgegangen, einen Ueberblick zu gewähren über die unendliche Fülle der von ihm ermittelten Tatsachen, und ihnen deutlich zum Bewußtsein zu bringen, was alles Robert Koch für die Wissenschaft, für uns Aerzte, für die gesamte Menschheit errungen hat, und wie tief wir alle in seiner Dankeschuld stehen.

Robert Koch, in der alten Bergstadt Clausthal im Harz am 11. Dezember 1843 geboren und humanistisch gebildet, absolvierte seine medizinischen Studien an der Georgia Augusta in Göttingen, vervollständigte seine medizinische Ausbildung als Assistent in Hamburg und ließ sich dann in Langenhagen bei Hannover als praktischer Arzt nieder. Von dort siedelte er nach einiger Zeit über nach Rakwitz in Posen. Trotz angestrengter Praxis fand er die Zeit, sein Physikatsexamen abzulegen und kam dann als Kreisphysikus nach Wollstein. In dieser Zeit, nachdem er eben die 30 überschritten, hat er den Grund gelegt für seine ganze spätere Entwicklung. Die kleinsten Lebewesen fesselten sein Interesse. Aber es fehlten noch die Methoden, um sie näher zu studieren. Ferdinand Cohn hatte sie als pflanzliche Gebilde erkannt, ihre Formen beschrieben und sie nach denselben klassifiziert und systematisiert. Schroeter hatte auf Scheiben gekochter Kartoffeln, welche der Luft ausgesetzt gewesen waren, eigentümliche Gebilde von verschiedenartigster Form und Farbe sich entwickeln sehen und festgestellt, daß die verschiedenfarbigen Häufchen und Fleckchen aus Mikroorganismen bestanden, welche zum Teil in ihrer Form verschieden, zum Teil aber auch gleich waren und gleichwohl zur Entstehung ganz verschieden aussehender Gebilde Anlaß gaben. Es begann sich eben das Chaos in dieser Gruppe der Kleinlebewesen zu lichten, und man begann zu ahnen, daß unter den einander so ähnlichen Formen zahlreiche verschiedene Arten verborgen waren. Die Lehre von der Urzeugung war ad absurdum geführt, dagegen aber hatte die Lehre von dem Contagium animatum eine mächtige Stütze erhalten durch die Arbeiten Joseph Listers, welcher unter dem Eindrucke der Arbeiten Louis Pasteurs über die Entstehung der Gärungen und der Fäulnis durch belebte Keime diese Anschauungen auf das Gebiet der Wundinfektionskrankheiten übertragen und seine antiseptische Wundbehandlung auf die Vernichtung aller Keime, welche etwa von außen in die Wunden hineingelangen konnten, basiert

und mit staunenerregendem Erfolge durchgeführt hatte. Der geniale Greifswalder Chirurg *Hueter* hatte in geistvollster Weise seine Monadenlehre entwickelt. Der berühmte Wiener Chirurg *Billroth* hatte in verzweifeltstem Ringen nach der Erkenntnis seine *Coccobacteria septica* als die Ursache der Wundkrankheiten zu erweisen sich bemüht. *Klebs* hatte sein *Microsporon septicum* in den eiternden und septischen Wunden beschrieben, aber niemand hatte die Aetiologie jener Krankheiten in einwandfreier Weise darzutun vermocht. Eine ganze Fülle von Beobachtungen war gemacht, aber der Schlüssel zu dem Rätsel nicht gefunden. Da kam *Koch*. Ihm war die Gabe eigen, und diese Gabe ist es, welche ihn groß gemacht hat, daß er in allen Fragen, welche er in Angriff nahm, den springenden Punkt erkannte. So auch in der damals die Gemüter der Aerzte bewegenden Frage nach der Entstehung der Wundinfektionskrankheiten, welche in dem großen deutsch-französischen Kriege, in Frankreich wie auch in den heimischen Lazaretten, die tapferen Krieger scharenweise dahinrafften. *Koch* erkannte mit scharfem Blick, daß die richtigen Methoden fehlten, welche allein Aufschluß darüber geben konnten, ob die in den faulenden Stoffen vorhandenen chemischen Substanzen oder belebte Wesen die wirksamen Agentien, die Ursache jener Krankheiten waren. Nur das Experiment konnte Klarheit darüber schaffen — und ohne Zaudern begann er mit dem Tierexperiment, indem er Mäusen und Kaninchen faulende Stoffe beibrachte und deren Wirkungen beobachtete. Und siehe da, der Versuch am Tiere gab sofort eine klare, deutliche Antwort. Bestimmte, morphologisch scharf charakterisierte, in dem Gewirr der Mikroorganismen im faulen Blute vorhandene, aber auf andere Weise nicht herausfindbare Organismen erzeugten bestimmte, klinisch scharf charakterisierte Krankheiten der Tiere, welche sich mit typischer Regelmäßigkeit von Tier zu Tier durch Impfung weiter übertragen ließen. Zum ersten Male war es *Koch* gelungen, spezifische, pathogene Bakterien als Erreger spezifischer, überimpfbarer Krankheiten festzustellen. Das kleine Werk: „Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten. Leipzig 1878“ verkündete den Anbruch einer neuen Aera, der Aera der exakten, durch unzweideutige Versuchsergebnisse sicher fundierten Forschung. Durch dieses Werk rückte der bis dahin unbekannte Arzt mit einem Schlage in die vorderste Reihe der wissenschaftlichen Forscher. Die Augen der ganzen wissenschaftlichen Welt richteten sich auf den einfachen Kreisphysikus in Wollstein.

Auf die Methode kam es an, das hatte *Koch* sofort erkannt, neuer Methoden bedurfte es, um vorwärts zu kommen in der Erkenntnis, um Licht zu verbreiten, wo Finsternis herrschte.

Ueber zwei Jahrzehnte hatten sich die Beobachter darüber gestritten, ob die farblosen, bewegungslosen Stäbchen, welche *Pollender*, *Rayer* und *Davaine* im Blute der an Milzbrand verendeten Tiere entdeckt hatten, und welche von jedem Untersucher darin gefunden wurden, lebende Wesen wären oder nicht, und ob dieselben die Entstehung der Krankheit veranlaßten. *Koch* schlug sofort den richtigen Weg ein, um diese brennende Frage zu entscheiden. Wenn diese Gebilde lebende Wesen waren, so mußten sie selbst den Beweis liefern für ihre belebte Natur. Eine Spur stäbchenhaltigen Blutes in Bouillon getan, bei Körpertemperatur mit dem Mikroskop beobachtet, ließ ohne weiteres erkennen, daß es sich in der Tat um lebende Wesen handelte, denn die Stäbchen wuchsen zu langen Fäden aus. Und in den Fäden bildeten sich eigen-

tümliche glänzende Körperchen, welche nach dem Zerfall der Fäden sich in dem Tropfen zu Boden senkten. In ihnen erkannte Koch eine Fruchtform der Stäbchen; denn aus ihnen sah er, wenn er sie in frische Bouillon übertrug, wiederum dieselben Stäbchen herauswachsen, welche im Blute der an Milzbrand verendeten Tiere stets gefunden waren. Auch in den Körper eines Tieres eingebracht, keimten sie aus, denn das Tier starb mit den gleichen wasserhellen Stäbchen im Blute. Mit dem fertigen Ergebnisse kam er nach Breslau, um es dort den Männern der Wissenschaft zu demonstrieren. Seine Hilfsmittel brachte er mit, sein eigenes Mikroskop und weiße Mäuse, mit Hilfe welcher es ihm denn auch ohne weiteres gelang, die Richtigkeit seiner Beobachtungen zu demonstrieren.

Jede dieser beiden Arbeiten würde Koch einen Ehrenplatz unter den wissenschaftlichen Forschern für alle Zeiten gesichert haben. Und doch waren sie nur der Anfang der langen Reihe glänzendster Entdeckungen, durch welche er, an den rechten Platz gestellt und mit den nötigen Mitteln versehen, den Ruhm deutscher Forschung dauernd begründet hat.

Das Verdienst, das Genie Kochs richtig erkannt und ihm die Gelegenheit zu voller Entfaltung gegeben zu haben, gebührt dem ersten Direktor des Kaiserlichen Gesundheitsamtes, dem erst vor kurzem verstorbenen Struck. Auf Strucks Veranlassung wurde Koch als Regierungsrat in das neue Amt berufen. Als er dort eintraf, war das chemische und das hygienische Laboratorium neu eingerichtet und für die damaligen Verhältnisse mit Räumen und Apparaten reich ausgestattet. Für Koch war zunächst kein Raum. Die Welt war weggegeben. Er erhielt nur ein kleines, einfenstriges Zimmer als Arbeitsraum, welches mit den herrlichen Laboratorien der anderen Regierungsräte gewaltig kontrastierte. Aber unbekümmert um diese keineswegs glänzende Installierung ging Koch sofort an die Arbeit. Kartoffeln wurden gekocht und auf den durchschnittenen Scheiben der Erreger des blutenden Fleisches, der blutenden Hostien, der *Micrococcus prodigiosus* ausgesät, und nach wenigen Tagen bereits leuchteten dem Eintretenden die prachtvollen blutroten Kulturen entgegen, welche auf jeden Beschauer, der sie zum ersten Male sieht, einen geradezu faszinierenden Eindruck machen. Auch auf mich verfehlten sie ihren Eindruck nicht. Sie zogen mich mächtig an. Auf meine Bitte wurde ich zu Koch kommandiert und so sein erster Assistent. Für zwei Personen war nun freilich das Zimmer schon fast zu klein, und als bald darauf Gaffky, zum Gesundheitsamt kommandiert, bei Koch sich als ihm zugeteilt meldete, da sprengte die Bakteriologie ihre enge Hülle und eroberte sich den ihr gebührenden Raum. Ein großes dreifenstriges Zimmer wurde Koch überwiesen. Die Einrichtung wurde schnell beschafft, die Arbeit aber auch nicht einen Augenblick unterbrochen. Die Erinnerung an jene Zeit, als wir noch in diesem Zimmer arbeiteten, in der Mitte Koch und wir zu seinen Seiten, als fast täglich neue Wunder der Bakteriologie sich vor unseren staunenden Augen aufboten und wir, dem leuchtenden Beispiel unseres Chefs folgend, vom Morgen bis zum Abend an der Arbeit saßen und kaum Zeit fanden, den leiblichen Bedürfnissen Rechnung zu tragen, — die Erinnerung an jene Zeit wird uns unvergeßlich bleiben. Lernten wir doch damals, was es heißt, beobachten und exakt arbeiten und mit Energie ein vorgestecktes Ziel verfolgen.

Zunächst wurden die Waffen zum Kampfe gegen die niedersten Organismen, welche Koch bereits in Wollstein geschmiedet, geübt und

verbessert, so die Methoden der Untersuchung der frischen Materialien im hängenden Tropfen, die Methoden der Färbung in Deckglasausstrichen und in Gewebsschnitten, die Methoden der naturgetreuen Wiedergabe der gefundenen Mikroorganismen mit Hilfe der bereits damals von Koch zu bewundernswerter Vollkommenheit entwickelten Mikrophotographie, vor allem aber die neuen Methoden der Kultur. Mit genialem Blicke hatte Koch erkannt, das alles darauf ankam, sichere, zuverlässige, von einem einzigen Keime ihren Ausgang nehmende Reinkulturen zu gewinnen. Die Lösung dieser schwierigsten Aufgabe gelang ihm in der einfachsten Weise dadurch, daß er die bis dahin allein angewandten Nährflüssigkeiten durch Zusatz von gelatinierenden Substanzen in Substrate verwandelte, welche nach Belieben in flüssigem und festen Zustande verwendet werden konnten. Durch Verteilen der Keime in der flüssig gemachten Nährgelatine und nachheriges Erstarrenlassen gelang es ihm, die räumlich voneinander getrennten und fixierten Keime sich zu isolierten Kolonien entwickeln zu lassen, von welchen dann Reinkulturen durch einfaches Abimpfen und Uebertragen auf frische Nährgelatine mit Leichtigkeit hergestellt werden konnten.

Dem Ausbau der Methoden zum Nachweise und zur Reinkultivierung des niedersten Organismus folgte die fundamentale Um- und Neugestaltung der ganzen Lehre von der Desinfektion, die Ausarbeitung der Methoden zur Prüfung der desinfizierenden Agentien, mit Hilfe welcher die Leistungsfähigkeit der verschiedenen chemischen und physikalischen Desinfektionsmittel unschwer ermittelt werden konnte, und schließlich die Einführung des strömenden Wasserdampfes in die Desinfektionstechnik an Stelle der bis dahin ausschließlich verwendeten trockenen Hitze.

Unvergeßlich wird allen Teilnehmern der gewaltige Eindruck sein, welchen auf dem internationalen medizinischen Kongresse in London im Jahre 1881 die Demonstration der neuen Methoden und der mit denselben erzielten Ergebnisse auf die Koryphäen unserer Wissenschaft gemacht hat, welche in Listers Laboratorium, vollzählig um Robert Koch versammelt, staunend und bewundernd die neuen großartigen Errungenschaften aus seinem Munde vernahmen und mit ihren eigenen Augen sahen, deren fundamentale Bedeutung der größte damals anwesende Forscher Louis Pasteur rückhaltlos anerkannte mit den Worten: „C'est un grand progrès!“

Aber alles dies war ja nur der Anfang, das Arsenal, welches dazu dienen sollte, die noch unbekanntten, furchtbaren, kleinsten Feinde der Menschen und Tiere, die Erreger der Infektionskrankheiten aufzufinden und mit Erfolg zu bekämpfen.

Die Auffindung der Erreger war zunächst die Hauptaufgabe. Für den Beweis, daß ein Mikroorganismus als Erreger einer bestimmten Krankheit anzusehen ist, stellte Koch drei Postulate auf: Konstanter Nachweis des betreffenden Organismus in allen Fällen der Krankheit, Gewinnung des Organismus in Reinkultur, frei von jeder Spur von körperlichen Bestandteilen des erkrankten Individuums, und Wiedererzeugung der Krankheit mittels zuverlässiger Reinkulturen. In seiner ausgezeichneten Arbeit über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten hat er diese seine Prinzipien scharf präzisiert. Dieselbe ist daher das Muster und Vorbild geworden für alle späteren Arbeiten auf ätiologischem Gebiet. Der Milzbrand, welchem er seine ersten großen Erfolge verdankte, war das nächste Objekt seiner Studien. Auf die Biologie seines Erregers begründete er seine Aetiologie. Das Experiment lehrte, daß

die natürliche Infektion der Schafe und Rinder nicht, wie Pasteur bewiesen zu haben glaubte, durch Infektion von kleinen, durch stacheliges Futter in den ersten Wegen erzeugten Läsionen durch die vegetativen Formen der Bacillen zu stande kommt, sondern durch die Aufnahme von Sporen, welche bei genügend hoher Außentemperatur von den in natürlichen Pflanzeninfusen gewachsenen Bacillen gebildet werden, und nach Passieren des Magens in dem alkalisch reagierenden Darmkanal zu Bacillen auswachsen und in die Gewebe eindringen. Die berühmte, von Pasteur entwickelte Regenwürmertheorie, nach welcher die Regenwürmer die Sporen, welche sich in den in der Erde vergrabenen Kadavern gebildet hätten, aus der Tiefe an die Oberfläche bringen sollten, wies er als irrig durch das Experiment nach. In der Tiefe des Erdbodens herrscht nicht die zur Sporenbildung notwendige Temperatur, und die von Regenwürmern aufgenommenen Sporen gehen in deren Darmkanal zu Grunde.

Mit dem größten Interesse, aber mit weitgehender Skepsis verfolgte er die Arbeiten Pasteurs über die künstliche Abschwächung der Virulenz der Erreger der Hühnercholera und des Milzbrandes. Die Angaben Pasteurs wurden sofort in Gemeinschaft mit Gaffky und mir einer experimentellen Nachprüfung unterzogen. Als dieselbe die Richtigkeit der Pasteurschen Beobachtungen erwies, erkannte er das neue wissenschaftliche Faktum der Abschwächung unbedingt an, bezüglich der praktischen Brauchbarkeit der künstlich abgeschwächten Erreger zu Schutzimpfungen, besonders der Schafe gegen den Milzbrand, bewahrte er jedoch eine gewisse Reserve, weil die Methode ihm nicht ohne Gefahr erschien für die schutzgeimpften Individuen, und weil besonders eine Anzahl schutzgeimpfter Hammel wohl der Impfung, nicht aber der Fütterung mit Milzbrandsporen widerstanden. Die sorgsame Fernhaltung der empfänglichen Tiere von den Weideplätzen, welche als natürliche Standorte der Milzbrandbacillen erkannt waren, eventuell die Sterilisierung des von solchen Plätzen gewonnenen Futters, sowie die Verhütung der Verbreitung der Milzbranderreger durch sorgfältige Vernichtung der an Milzbrand verendeten Kadaver waren die von ihm empfohlenen, auf die Biologie des Milzbranderreger begründeten Maßnahmen, welchen er mehr vertraute als den Schutzimpfungen mit den abgeschwächten Erregern.

Nachdem die Aetiologie des Milzbrandes bis in die kleinsten Details klargelegt war, nahm Koch die wichtigste und höchste Aufgabe in Angriff, die Erforschung der Infektionskrankheiten des Menschen. Während er den Typhus und die Diphtherie uns, seinen Schülern und Mitarbeitern, überließ, wählte er sich selbst aus die furchtbarste Geißel des Menschengeschlechtes — die Tuberkulose.

Ihre Uebertragbarkeit war durch die schönen Versuche von Klencke und von Villemin, besonders aber durch die ausgezeichneten Uebertragungsversuche von Cohnheim und Salomonsen in die vordere Augenkammer der Kaninchen, klar erwiesen. Es stand hiernach für Koch fest, daß ein belebtes Agens sie erzeugen müsse.

Und nun begann er Material, in welchem der Infektionsstoff mit Sicherheit zu erwarten war, z. B. frischentwickelte, noch graue Tuberkeln der Lungen von Tieren, welche 3—4 Wochen nach der Impfung getötet waren, auf Deckgläschen zerquetscht und in Schnitten mit allen ihm bekannten Färbungsmethoden auf das Vorhandensein von Mikroorganismen zu untersuchen. Lange Zeit vergebens. Schließlich aber gelang

es ihm mit Hilfe einer Methylenblaulösung, deren Färbekraft durch Zusatz einer gewissen Menge Kalilauge verstärkt war, feine blaue Stäbchen zu entdecken. Bei dem Versuche, diese Stäbchen durch eine differenzierende Farbreaktion mit Vesuvin deutlicher erkennbar zu machen, sah er, daß die vorher blaugefärbten Zellkerne und deren Zerfallsprodukte die braune Farbe angenommen hatten, während die Stäbchen schön blau geblieben waren und nun mit Leichtigkeit in jedem tuberkulösen Material erkannt werden konnten. Die nächste Aufgabe war es, diese Gebilde in Reinkultur, getrennt von allen körperlichen Bestandteilen, zu gewinnen. Und auch diese Aufgabe gelang es Koch mit Hilfe eines neuen Nährbodens, dem durch Erhitzen auf 65° zum Erstarren gebrachten Blutserum, mit unendlicher Geduld und Mühe glänzend zu lösen. Die für die ätiologische Bedeutung der gefundenen Bacillen den Abschluß liefernde Wiedererzeugung der Krankheit mit den gewonnenen Reinkulturen machte dann keine Schwierigkeit mehr. Der stolze Bau war fertig; auch kein Steinchen fehlte an demselben. Und als in der denkwürdigen Sitzung der physiologischen Gesellschaft am 24. März 1882 Koch ohne jedes Pathos, ruhig und nüchtern seine Resultate bekannt gegeben hatte, da war vor der überzeugenden Wucht seiner Beweisführung jeder Zweifel verstummt: die verheerendste aller Krankheiten des Menschen war als Infektionskrankheit erwiesen, ihr Erreger der von Koch entdeckte Tuberkelbacillus.

Damit war die Aussicht eröffnet, einen erfolgreichen Kampf gegen diesen schlimmsten Feind führen zu können. Koch nahm ihn sofort mit aller Energie auf. Aber mitten in der Arbeit stehend, mußte er diese unterbrechen. Ein unheimlicher Gast klopfte an die Tore Europas — die Cholera. Aller Augen richteten sich in banger Sorge zwar, aber doch zugleich hoffnungs- und vertrauensvoll auf Robert Koch. Als der Ruf an ihn erging, in Aegypten die Cholera zu erforschen, ließ er seine glänzenden, so viel versprechenden Tuberkulosearbeiten im Stich und wandte sich furchtlos und ohne Zaudern gegen den neuen Feind. Aber als ob die Cholera ihren Meister sogleich erkannt hätte, kurz nach dem Eintreffen der deutschen Kommission unter Führung Kochs erlosch sie im Aegypterland. Koch aber, der bereits in einigen Fällen wichtige Wahrnehmungen in den charakteristischen Darmentleerungen gemacht hatte, folgte ihr kurz entschlossen in ihr Heimatland, Indien, und dort gelang es ihm, als ihren Erreger eine neue Art von Lebewesen, ein lebhaft bewegliches, schraubenförmiges Stäbchen, das auf Deckgläschen angetrocknet, von kommaförmiger Gestalt erschien, den deshalb so genannten Kommabacillus, nicht nur aufzufinden, sondern auch in Reinkultur zu gewinnen. Die Studien über die Biologie dieses Erregers führten zum klaren Verständnis der Verbreitungsweise dieser fast noch mehr wie die Tuberkulose wegen ihres akuten Verlaufes gefürchteten Krankheit und damit zur Erkenntnis der zu ihrer erfolgreichen Bekämpfung notwendigen praktischen Maßnahmen. Der kranke Mensch ist der Träger, Vermehrer und Verbreiter der Keime. Es kommt alles darauf an, die ersten Krankheitsfälle sofort rechtzeitig zu erkennen, sie zu isolieren und unschädlich zu machen. Koch lieferte die Methoden, welche die frühzeitige Sicherstellung der Diagnose durch Nachweis des spezifischen Erregers gestatten. Die internationale Sanitätskonferenz zu Dresden im März 1883 nahm die Vorschläge Kochs über die gegen die Einschleppung der Cholera zu ergreifenden Maßnahmen an. Eine ganze Anzahl, Handel und Wandel stark belästigender Vorschriften kamen in

Wegfall, ohne daß dadurch die Gefahr einer Einschleppung erhöht worden wäre. Der Ausbruch der Cholera in Hamburg gab Koch Gelegenheit, die Richtigkeit und Wirksamkeit der von ihm vorgeschlagenen Bekämpfungsmaßregeln darzutun. Den von Koch gelehrt und durchgeführten Maßnahmen hatte es Deutschland zu danken, daß es verschont blieb von einer allgemeinen Epidemie. Während rings jenseits der Grenzen der exotische Gast ungezählte Opfer ergriff und erwürgte, kam es in Deutschland nirgends zu einer epidemischen Verbreitung, wiewohl häufig genug die Krankheit über die Grenzen verschleppt wurde. Im Vertrauen auf die Kochschen Maßnahmen wurden sogar die Manöver in einer Provinz abgehalten, in welcher eingeschleppte Fälle vorgekommen waren.

Eines der wichtigsten Ergebnisse der Cholerabekämpfung war die Neuregelung der Trinkwasserversorgungsverhältnisse, welche ja für die Ausbreitung der Cholera eine hervorragende Bedeutung besitzen. Eingehende Versuche über die Leistungen der Sandfiltration des Wassers führten zur Erkenntnis ihrer schwachen Punkte und gaben den Anlaß zur Einführung neuer Vorschriften über die Handhabung der Filter und über die Beurteilung ihrer Leistungsfähigkeit auf Grund regelmäßiger bakteriologischer Untersuchungen der von jedem einzelnen Filter einer größeren Anlage gelieferten Wassermengen. Im Hinblick auf die mit der Versorgung durch Oberflächenwasser stets verbundenen Gefahren wies Koch auf die reichen Schätze tadellosen, vor Infektionen geschützten Wassers hin, welche unter der Erde, im Grundwasser, ihrer Erschließung harren.

Sobald es die Cholerauntersuchungen gestatteten, kehrte Koch zu seinen Tuberkulosestudien zurück. Die gegen die Tuberkulose zu ergreifenden Bekämpfungsmaßnahmen ergeben sich aus der Biologie des Erregers von selbst. Der Tuberkelbacillus vermag sich nur bei höheren Temperaturen zu vermehren. Der kranke Mensch und die an Tuberkulose erkrankenden Tierspecies, insbesondere die Rinder, stellten die einzige Vermehrungstätte dar, und ihre Ex- und Sekrete die Quellen ihrer Verbreitung. In diesen Se- und Exkreten mußte der Erreger unschädlich gemacht werden. Am besten war es natürlich, wenn es gelang, die Erzeugung der reichliche Keimmengen enthaltenden Ausscheidungsprodukte zu verhindern. In jahrelangen, unermüdlichen Versuchen war Koch deshalb bemüht, ein Mittel zu finden, um die außerhalb des Körpers ja leicht zu tödenden Parasiten auch innerhalb des lebenden Organismus zu vernichten. Auf dem X. internationalen medizinischen Kongresse in Berlin 1890 machte er die erste, ungeheures Aufsehen erregende Mitteilung, daß er nun endlich ein Mittel gefunden, um die Entwicklung des Tuberkelbacillus im Körper des Meerschweinchens zum Stillstand zu bringen. Kurze Zeit darauf folgte seine grundlegende Publikation über das Tuberkulin — das Filtrat von Kulturen der Tuberkelbacillen auf Glycerinbouillon — mit Hilfe dessen die Tuberkulose in ihren ersten Stadien nicht nur erkannt, sondern, wie er hoffe, auch geheilt werden könne. Diese Veröffentlichung wurde mit einem geradezu beispiellosen Enthusiasmus aufgenommen, sowohl von seiten der Laien als auch von seiten der Aerzte. Es gab ja auch nichts Ueberraschenderes, als die auf die Injektion des Tuberkulins bei tuberkulösen Individuen folgende typische Reaktion, und zwar sowohl die allgemeine als ganz besonders auch die an den tuberkulös erkrankten Geweben auftretende lokale Reaktion. Staunend sahen die aus der

ganzen Welt nach Berlin zusammenströmenden Aerzte, wie bei den Lupuskranken eine gewisse Zeit nach der Injektion einer kleinen Dosis des Tuberkulins die lupösen Parteen, und nur diese, sich zu röten und zu schwellen begannen, und wie aus den geschwollenen Parteen ein Transsudat hervorquoll, ein Beweis für die enorme, in den kranken Parteen entstandene reaktive Veränderung. Die übertriebensten Hoffnungen wurden an das neue Wundermittel geknüpft. Jeder Phthisiker in extremis, mit den ausgedehntesten Zerstörungen in seinen Atmungsorganen, glaubte man, würde noch durch einige Injektionen des Tuberkulins geheilt und zu einem völlig gesunden Menschen gemacht werden können.

Das aber hatte Koch nicht versprochen, und das konnte natürlich auch das Tuberkulin nicht leisten. Als nun diese erträumten, übertriebenen Hoffnungen sich nicht verwirklichten, als sogar manche der mit Tuberkulin behandelten Kranken infolge zu heftiger Reaktion zu Grunde gingen, als von pathologisch-anatomischer Seite namentlich behauptet wurde, daß durch die Reaktion die Tuberkelbacillen in alten Herden „mobil“ gemacht würden, daß mithin nicht eine Heilung, sondern vielmehr ein neues Anfachen des Krankheitsprozesses erreicht werde, schlug die Stimmung um — und bald war Robert Koch, der gefeierte Forscher, der Wohltäter der Menschheit, einer der meist geschmähten, wo nicht sogar bestgehaßten Männer, nicht nur im Auslande, sondern auch bei uns in seinem Vaterlande. Und doch hat er recht behalten mit dem, was er versprochen: das Tuberkulin hat sich bewährt als das beste Diagnostikum der Tuberkulose in ihren ersten Stadien. Die umfangreichen Versuche mit demselben an tuberkulösen Rindern, bei welchen das Reaktionsergebnis nach der Schlachtung der Tiere anatomisch nachgeprüft werden konnte, haben seine geradezu unfehlbare diagnostische Bedeutung gegen jeden Zweifel sichergestellt — und auch für den Menschen bezweifelt heute wohl niemand mehr seinen unschätzbaren Wert für die Frühdiagnose der Krankheit. Das Tuberkulin hat zum anderen aber auch das gehalten, was Koch von ihm als Heilmittel gesagt hat. Es hat sich in der Hand sorgsamer Aerzte bewährt als ein Heilmittel für die beginnende Tuberkulose. Aerzte, wie Stricker, Petruschky, vor allem der vor kurzem verstorbene Goetsch, haben Zeugnis abgelegt für die Heilwirkung des Tuberkulins in dem Sinne, wie es von Koch in seiner ersten Veröffentlichung ausgesprochen und gemeint war. Koch selbst genügte die Leistung seines Tuberkulins noch nicht. Unverdrossen arbeitete er weiter und bemühte sich, wirksame, heilende und immunisierende Substanzen aus den Tuberkelbacillen zu gewinnen. Schließlich erkannte er, daß die Tuberkelbacillen selbst in toto und nicht irgendwelche aus denselben extrahierte Stoffe das wirksame therapeutische Agens darstellen. Ihrer Anwendung aber stellte sich entgegen ihre wegen ihres Gehaltes an wachsartigen Körpern ganz ungenügende Resorptionsfähigkeit und ihre zur Ausstoßung führende, eiterungserregende Eigenschaft. Aber alle diese Schwierigkeiten gelang es Kochs genialem Geist zu überwinden. Er unternahm das gefährliche Experiment, die getrockneten lebenden Tuberkelbacillen im Achatmörser mechanisch zu zerreiben, und fand sein Bemühen von Erfolg gekrönt. Durch genügend langes Verreiben konnten die mikroskopisch winzigen Bacillen zu feinstem Pulver verrieben werden, so daß auch nicht ein intakter Bacillus mehr erkennbar war. Dieses feine Bakterienpulver konnte in isotonischer Kochsalzlösung durch wiederholtes Suspendieren,

Zentrifugieren und Weiterzerreiben zur Lösung gebracht werden und stellte nun ein leicht resorbierbares Präparat dar. Dieses neue Tuberkulin — TR — hat einmal die Wirkung des alten Tuberkulins, daß es die Reaktionen auslöst, dann aber noch ganz besondere, nach der Ansicht Kochs immunisierende Wirkungen. Nach Injektion geringer Mengen desselben in die Blutbahn entstehen jedenfalls im Blute der betreffenden Individuen, welche im stande sind, in den TR-Lösungen eine Fällung hervorzurufen, eine Fähigkeit, welche das Blut der tuberkulösen, nicht mit TR behandelten Individuen nicht besitzt. Die Akten über dieses Präparat sind noch nicht geschlossen. Wir müssen daher unser Urteil über den heilenden und immunisierenden Wert desselben zurückhalten, bis genügende Erfahrungen darüber bekannt gegeben sind.

In demselben Jahre wurde Koch damit betraut, die im Kreise Memel festgestellte Lepra zu studieren. Er kam bei seinen Studien zu dem Schluß, daß die Lepra sich durch Ansteckung verbreitet, und nicht durch Vererbung. Die Untersuchung der Exkrete der Kranken lehrte ihn, daß die Absonderungen der Nase und des Kehlkopfes stets reich an Bacillen sind. Koch glaubt daher, daß die mit dem Sekret der Respirationswege nach außen beförderten Bacillen es sind, welche die Krankheit verbreiten. Er forderte deshalb die Isolierung der Kranken in einem besonderen Lepraheim, das dann auch, dank dem energischen Vorgehen des Kultusministers, in kurzer Zeit eingerichtet und eröffnet wurde.

Nicht lange war es ihm vergönnt, seine Studien in der Heimat fortzuführen. Dank seiner glänzenden Leistungen und Erfolge war er als erste Autorität auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten im In- und Auslande anerkannt. Es kann daher nicht überraschen, daß auch andere Völker seine Hilfe herbeisehnten, sobald es darauf ankam, drohende Seuchen zu bekämpfen. In Afrika hatte die Rinderpest eine geradezu erschreckende Ausdehnung gewonnen und bedrohte auf das schwerste die ganze europäische Kultur, namentlich in Südafrika. Millionen standen auf dem Spiele. Da wandte sich in der höchsten Bedrängnis die englische Regierung an Koch. Und ungesäumt folgte er dem ehrenvollen Rufe. Innerhalb weniger Monate hatte er den Triumph, zwar nicht den Erreger, wohl aber ein Mittel gefunden zu haben, um die Tiere gegen die Seuche zu immunisieren. Durch Einspritzung von Galle aus den Gallenblasen an Rinderpest verendeter Rinder gelang es ihm, die Rinder zu schützen und so der Seuche Einhalt zu gebieten. Die Gallenimpfung hat sich auch fernerhin vortrefflich bewährt und auch für die deutschen Schutzgebiete in Südwestafrika in der Hand Kohlstocks ihre segensreiche Wirkung entfaltet.

Während Koch in Südafrika die Pest der Rinder mit Erfolg bekämpfte, hatte die Pest der Menschen in Indien so bedrohliche Ausdehnung erlangt, daß alle Kulturstaaten es für geboten erachteten, wissenschaftliche Kommissionen zum Studium dieser Seuche nach Indien zu entsenden. Auch Deutschland entsandte seine Kommission, deren oberster Chef natürlich niemand anderes sein konnte als Robert Koch. Ungesäumt gab sich Koch von Kimberley nach Bombay, wo inzwischen unter Gaffkys Leitung die deutsche Kommission bereits an der Arbeit war. An der Gewinnung des reichen, von der Kommission erarbeiteten und von Gaffky meisterhaft dargelegten Materials gebührt Koch sein volles Teil. Die Studien über die Bekämpfung der Pest sind seit jener Zeit in dem unter Kochs Leitung gestellten

Institute für Infektionskrankheiten nicht wieder von dem Arbeitsplane verschwunden und haben namentlich durch die verdienstvollen Arbeiten von Pfeiffer und Kollé zu wertvollen Ergebnissen geführt.

Koch ging von Bombay wieder nach Afrika zurück und zwar nach Deutsch-Ostafrika.

Es war die Kunde laut geworden, daß im Herzen Afrikas ein Herd von Menschenpest bestehe. Mit den Instruktionen Kochs versehen, machte Zupitza den Marsch in das Innere und sammelte dort das Material, an welchem Koch dann mit Leichtigkeit feststellen konnte, daß es sich in der Tat um einen Herd echter Menschenpest handelte. In Indien wie auch in den Hütten der Eingeborenen in Afrika wurden als wichtige Verbreiter der Pest die Ratten erkannt, und damit für die Bekämpfung dieser Krankheit ein neuer wertvoller Weg gezeigt.

In Ostafrika hatte Koch noch eine andere Mission zu erfüllen. Er hatte zu ermitteln, welche Krankheiten dort die wichtigsten Tiere, Rinder und Pferde, dezimierten. Nach kurzer Zeit konnte er mitteilen, daß einmal die durch Trypanosomen bedingte Surra-Krankheit, welche er bereits in Indien kennen gelernt, und andererseits das Texasfieber die Ursache der Sterben dort waren. Für beide Krankheiten gelang es ihm, wertvolle Erweiterungen unserer Kenntnisse zu liefern. Durch Impfungen auf verschiedene Tierspecies konnte er den Nachweis erbringen, daß die Trypanosomen der Ratten von denen der Surra verschieden sind, und bezüglich des Texasfiebers vermochte er die experimentelle Bestätigung zu liefern für die von Smith dargetane, aber mit Zweifeln überall aufgenommene Uebertragung der in den Blutkörperchen parasitierenden Krankheitserreger durch die Abkömmlinge von Zecken, welche an kranken Tieren Blut gesaugt hatten. Er brachte die von solchen Zecken gelegten Eier von der Küste nach dem Inneren, wo die Krankheit unbekannt war, und vermochte durch Aufsetzen der aus den Eiern ausgekrochenen jungen Zecken auf die Haut gesunder Rinder diese mit der Krankheit zu infizieren.

Durch seine Studien in den tropischen und subtropischen Gebieten wurde naturgemäß die Aufmerksamkeit Kochs auch hingelenkt auf die wichtigste Menschenkrankheit der Tropen, die Malaria. Daß sich ein Mann von dem nimmer rastenden Forschungsdrange eines Koch die sich ihm bietende günstige Gelegenheit, auch diese Krankheitsgruppe zu studieren, nicht würde entgehen lassen, lag auf der Hand, zumal über die Entstehung und Verbreitung der Krankheit trotz der Entdeckung Laverans noch Dunkel herrschte, und zumal diese Krankheitsgruppe mit den neueren Methoden noch nicht genügend, namentlich nicht in den tropischen Gebieten, studiert war. Das Eingreifen Kochs in das Studium der Malariakrankheiten bildet einen Meilenstein in der Geschichte der Malaria. Bei seinem Aufenthalte in Indien bereits hatte sich ihm der Gedanke aufgedrängt, daß bei der Verbreitung der Krankheit die Moskitos eine Rolle spielen müßten. Die Beobachtungen über die Uebertragung der Surra durch die Tsetsefliege und des Texasfiebers durch die Zecken bestärkten ihn in dieser Idee, deren Verfolgung er nunmehr mit seiner bekanntesten eisernen Energie in Angriff nahm. Es ist ihm nicht vergönnt gewesen, als erster die Beweise für die Moskitotheorie zu liefern. Während er seinen Arbeitsplan durchführte und auf Grund eigener Untersuchungen eben zu beweisenden Ergebnissen gelangt war, hatte der indische Militärarzt Ross das Problem gelöst. Die Untersuchungen Kochs, welche zu genau denselben Ergebnissen ge-

führt hatten, gaben naturgemäß den Forschungen Ross' ein ganz besonderes Relief. Aber wenn nun auch die Entdeckung des doppelten Entwicklungsganges der Malariaparasiten, des ungeschlechtlichen im Menschen und des geschlechtlichen in einer bestimmten Mückenart, im *Anopheles*, nicht an den Namen Robert Kochs geknüpft ist, so hat gleichwohl Robert Koch geradezu hervorragende Verdienste um die Erkenntnis der Malaria nicht nur, sondern vor allem auch um deren Bekämpfung. Durch seine Untersuchungen ist festgestellt, daß es drei Malariaarten gibt, die Tertianaria, die Quartana und die von ihm so benannte Tropica, deren jede durch einen eigenen, morphologisch scharf charakterisierten Parasiten hervorgerufen wird, ferner, daß die Untersuchung des Blutes der Kinder in den ersten Lebensjahren das sicherste Mittel ist, um festzustellen, ob an einem Orte Malaria endemisch herrscht oder nicht, daß es möglich ist, durch die mikroskopische Blutuntersuchung den Zeitpunkt zu bestimmen, zu welchem das Chinin gegeben werden muß, um die beste Wirkung zu erzielen, daß es möglich ist, in ihren allerverruften Herden, wie in Neu-Guinea, die Krankheit mit Erfolg zu bekämpfen, indem man die Kranken mit Hilfe der Blutuntersuchung herausfindet und sie durch zweckmäßige Chinindarreichung heilt, daß man endlich durch richtige prophylaktische Darreichung des Chinins, jeden 10. und 11. Tag 1 g, die in Malaria-gegenden sich Aufhaltenden vor der Erkrankung schützen kann. Es würde den mir zu Gebote stehenden Raum weit überschreiten, wollte ich versuchen, die Unsummen der ausgezeichneten Beobachtungen in der Technik des Nachweises wie bei der Behandlung der Malaria, mit welchen Koch die Wissenschaft bereichert hat, wie z. B. seine ausgezeichneten Forschungen über die Entstehung des Schwarzwasserfiebers durch das Chinin, näher darzulegen. Ein jeder, davon bin ich überzeugt, welcher die Malariaarbeiten Kochs verfolgt und gelesen hat, wird mit mir darin übereinstimmen, daß der Name Robert Kochs ebenso untrennbar mit dieser Krankheit verbunden bleiben wird, wie die Namen der Entdecker ihrer Erreger und ihrer Verbreitung durch die *Anopheles*.

Trotz dieser Fülle von Arbeiten, welche ihn für längere Zeiträume von der Heimat und seinem Institute fernhielten und seine Arbeitskraft im höchsten Maße in Anspruch nahmen, verlor Koch niemals die Krankheit aus den Augen, deren Entdeckung und Erforschung sein höchster Ruhmestitel ist, die Tuberkulose. Ihre wirksame Bekämpfung lag ihm ganz besonders am Herzen. Es schien eine unumstößliche Tatsache zu sein, daß die Erreger durch zwei Hauptquellen verbreitet würden, durch den Auswurf der an Lungentuberkulose leidenden Menschen und durch die Milch bzw. das Fleisch der an Tuberkulose erkrankten Rinder. Die Tuberkulose des Menschen war identisch erschienen mit der Tuberkulose alias Perlsucht des Rindes. Meerschweinchen mit Tuberkelbacillen, gleichviel ob vom Menschen oder vom Rinde herrührend, geimpft, erkrankten an der gleichen typischen Form der Tuberkulose.

Gerade aber über diesen Punkt stiegen Koch bei eingehendem Studium Bedenken auf. Die durch überaus zahlreiche Untersuchungen allerorten festgestellte Tatsache, daß Milch und Butter aus allen größeren Molkereien stets lebende, virulente Tuberkelbacillen enthielt, stimmte nicht überein mit der klinischen und pathologisch-anatomischen Beobachtung, daß primäre Darmtuberkulose nur selten vorkommt. Ferner

deckten sich durchaus nicht Häufigkeit des Vorkommens der Tuberkulose unter den Rindern mit der Häufigkeit des Vorkommens der Tuberkulose unter den Menschen. Dazu kam, daß sich die aus Menschenmaterial gewonnenen Tuberkelbacillen morphologisch und kulturell etwas verschieden zeigten von den aus Rindern gewonnenen. So keimte in Koch der Gedanke auf, daß Menschen- und Rindertuberkelbacillen trotz gleichen färberischen Verhaltens, trotz Erzeugung gleichwirkender Tuberkuline, trotz gleicher pathogener Wirkung auf Meer-schweinchen verschieden sein könnten. Die Sache erschien ihm von so weittragender Bedeutung, daß er sich entschloß sie experimentell zu untersuchen. Die von ihm und Schütz unternommenen Versuche bestätigten in ganz eklatanter Weise seine Vermutung. Menschenbacillen machten Rinder nicht krank, Rinderbacillen, in gleicher Weise und in gleicher Menge Rindern eingeimpft, führten bei diesen zu einer schnell fortschreitenden, zum Tode führenden allgemeinen Tuberkulose. Wie eine Bombe schlug es ein, als Koch auf dem internationalen Kongresse in London im Jahre 1901 mit diesen neuen Anschauungen öffentlich hervortrat: Die Menschentuberkelbacillen sind von den Rindertuberkelbacillen verschieden, erstere infizieren nur die Menschen, letztere nur die Rinder. Ein Sturm des Widerspruches erhob sich. Mit ganz besonderer Heftigkeit wandten sich die Tierärzte aller Länder gegen diese neuen, ihre ganze Stellung, ihren Einfluß auf die menschliche Pathologie schwer bedrohenden Ideen. In allen Kulturländern wurden Kommissionen ernannt, welche mit der experimentellen Prüfung dieser für die Bekämpfung der menschlichen Tuberkulose von der fundamentalsten Wichtigkeit erscheinende Frage betraut wurden. Bei uns in Deutschland war es der Reichsgesundheitsrat, welcher ein umfangreiches Programm ausarbeitete für die im Gesundheitsamte auszuführenden Versuche, durch welche die Frage entschieden werden sollte. Noch stehen wir mitten im Kampfe. v. Behring, der hochverdiente Schöpfer der Serumtherapie, welcher über ein umfangreiches experimentelles Material auch auf dem Gebiete der Tuberkulose verfügt, wie kaum ein anderer, vertritt einen dem Kochschen diametral entgegengesetzten Standpunkt. Er erachtet Menschen- und Rindertuberkelbacillen generell für identisch. Er erkennt einen Unterschied zwischen beiden Bacillenarten nur darin, daß im allgemeinen die Menschenbacillen schwächer virulent seien als die Rinderbacillen, und vertritt die Anschauung, daß die Menschentuberkulose in einer großen Anzahl von Fällen bedingt werde durch Rindertuberkelbacillen, welche mit der Milch von den kleinen Kindern vom Darne aus aufgenommen würden. Daß beide Bacillenarten nicht verschieden seien, schließt er auch daraus, daß, wie er ermittelt hat, mit den abgeschwächten menschlichen Tuberkelbacillen Rinder gegen die Rindertuberkulose immunisiert werden können.

Die Zukunft wird lehren, wer recht hat. Soviel steht fest, daß sehr zahlreiche Stämme von Tuberkelbacillen menschlicher Herkunft experimentell als unschädlich für das Rind erwiesen sind, während alle Stämme, welche frisch vom Rinde stammen, die Rinder typisch tuberkulös machen, daß mithin der Mensch für die Infizierung der Rinder nicht wesentlich in Betracht kommen kann. Wenn einmal ein mit ausnahmsweise hoher Virulenz begabter Menschentuberkelbacillus ein Rind krank macht, wie in einigen wenigen Fällen experimentell dargetan, so ist das eine Ausnahme und: *Exceptio firmat regulam*. Dafür, daß auch umgekehrt der Mensch in der Regel durch den Rindertuberkelbacillus

nicht infiziert wird, spricht eine Reihe von Argumenten: Die Seltenheit der Infektion mit perlsüchtigem Materiale bei Individuen, welche mit demselben unausgesetzt zu hantieren haben und der leichte, örtlich lokalisiert bleibende Verlauf der vereinzelt vorkommenden Infektionen, die negativen direkten Impfergebnisse bei Carcinomkranken, über welche Baumgarten berichtet hat, vor allem aber die Erwägung, daß, wenn die Rindertuberkelbacillen den Menschen infizierten, da, wo nahezu 100 Proz. der Rinder tuberkulös befunden werden, alle mit diesen Tieren beschäftigten Personen, d. h. die ganze Landbevölkerung, tuberkulös infiziert sein müßten, da ja gerade die Rindertuberkelbacillen die höchste Virulenz besitzen sollen und deshalb besonders leicht auch die Menschen infizieren müßten. Für Rinder sind sie hochvirulent. Denn kommt ein tuberkulöses Rind in einen tuberkulosefreien Bestand, dann dauert es nicht lange, bis die Krankheit sich in demselben in geradezu erschreckender Weise ausbreitet, die Menschen aber bleiben dort gesund. Wenn nicht alle Anzeichen trügen, wird Koch mit seinem scharfen, genialen Blick, wie in so vielen anderen fundamentalen Fragen, so auch in dieser Frage das Richtige erkannt haben.

Das Bild von Robert Kochs Arbeit auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten würde unvollständig sein, wollten wir nicht noch einer Anzahl anderer Krankheiten gedenken, denen er sein förderndes Interesse zugewandt. In Aegypten, während er den Cholerastudien oblag, fand er noch die Muße, sich mit zwei wichtigen Krankheiten zu beschäftigen. Kranke, behaftet mit der sogenannten ägyptischen Augenkrankheit, kamen ihm täglich zu Gesicht. Er untersuchte das eiterige Bindehautsekret und fand in demselben kleine, winzige Bacillen, noch kleiner als die von ihm entdeckten Bacillen der Mäuse-septikämie, nahezu in Reinkultur. Der Bacillus war so typisch und fand sich so konstant, daß Koch nicht Anstand nahm, ihn für den Erreger zu halten. Der Uebertragungsmodus war offenbar. Die Kinder mit den eiterigen Augen, auf welchen massenhaft Fliegen saßen, redeten eine deutliche Sprache. Die Befunde Kochs wurden später an den verschiedensten Orten der Welt, zuerst von Weeks in New York, bestätigt. Zahlreichen Forschern gelang es, die Stäbchen rein zu kultivieren, mit den Reinkulturen bei sich selbst und bei anderen die typische Krankheit wieder zu erzeugen und damit den einwandfreien Beweis für die ätiologische Bedeutung der von Koch in Aegypten entdeckten Stäbchen zu liefern.

Die zweite Krankheit, welche Koch neben der Cholera in Aegypten studierte, war die Dysenterie. Im Grunde der typischen Darmgeschwüre fand er nicht Bacillen, sondern Amöben, die er nach ihrem Verhalten zu den krankhaften Veränderungen als deren Erreger ansprach. Sein Schüler Kartulis hat diese Befunde an zahlreichen Dysenteriefällen in Aegypten bestätigt und durch erfolgreiche Uebertragung amöbenhaltiger Dejekte in das Rectum von Katzen die pathogene Bedeutung der Amöben dargetan. Auch in anderen Ländern wurden gleiche Befunde erhoben. Die späteren Untersuchungen von Shiga in Japan, von Flexner in Amerika, von Kruse in Deutschland, im Ruhrgebiete, haben erwiesen, daß eine gewisse Form der epidemischen Dysenterie durch einen scharf charakterisierten Bacillus hervorgerufen wird. Die Befunde von Koch und Kartulis in Aegypten sind dadurch nicht etwa in Frage gestellt. Das klinische Bild der Dysenterie entspricht nicht einem ätiologisch einheitlichen Krankheits-

prozesse. Wir müssen vielmehr zwei Formen der Dysenterie, die tropische, durch die Kochschen Amöben hervorgerufene und die epidemische Bacillendysenterie künftighin unterscheiden.

Die dritte Krankheit endlich, welcher Koch in letzter Zeit sein Interesse zuzuwenden sich veranlaßt sah, ist der Typhus abdominalis, dessen Aetiologie durch Gaffky klargelegt ist. Koch zeigte an der Hand sorgfältiger Studien und Beobachtungen, daß der Typhus abdominalis keineswegs immer durch infiziertes Trinkwasser, sondern weit häufiger, als man gedacht hatte, durch direkten Kontakt von Mensch zu Mensch verbreitet wird, und lehrte ihn durch Aufsuchen und Unschädlichmachen der einzelnen Fälle, genau wie die Cholera, erfolgreich bekämpfen. Die Einrichtung besonderer Typhusuntersuchungsstationen in den von Typhus stark heimgesuchten Gebieten des Rheinlandes und des Elsaß, welchen die Sorge obliegt, die Seuche dort nach und nach zum Segen der dort garnisonierenden Truppen auszutilgen, ist seiner Initiative zu danken. Eine Methode, welche den Nachweis der Bacillen in den Dejekten mit größerer Schnelligkeit und Sicherheit wie früher zu führen gestattet, ist unter seiner Aegide von v. Drigalsky und Conradi ausgearbeitet und dient als wichtiges Hilfsmittel in diesem Kampfe.

Auch aus seiner Typhusbekämpfung wurde er wieder herausgerissen, nachdem er sie eben in die Wege geleitet. Zum zweiten Male war an ihn der Ruf der englischen Regierung ergangen, seine hilfreiche Hand zu bieten zur Erforschung und Bekämpfung einer neuen, schwere Verluste herbeiführenden Krankheit der Rinder im zentralen Afrika. Seit Anfang dieses Jahres finden wir Koch wieder im dunklen Weltteile, der ihn mächtig angezogen, das neue Problem studierend. Man sagt von Afrika fast dasselbe, wie von der Fontana di Trevi in Rom. Jeder, so geht die Sage, der von ihr getrunken, behält die Sehnsucht nach ihr im Herzen, und jeder, welcher den Reiz des dunklen Weltteils empfunden, fühlt sich mit magischer Kraft wieder zu ihm hingezogen. Daß neue Probleme seinen Forschergeist mächtig anziehen, wird jeder verstehen, welcher Kochs unermüdlichen Forschungsdrang kennen gelernt. Schon ist die Kunde zu uns gedrungen, daß er auch in diesem neuen schwierigen Falle die Lösung des Rätsels gefunden, daß er bereits ein neues Blatt seinem Ruhmeskranze hinzugefügt.

Wenn wir nun noch einmal alles das überblicken, was Koch selbst geschaffen hat, wenn wir weiter noch berücksichtigen die Unsummen von hochbedeutungsvollen Ergebnissen, welche von der großen Schar seiner Schüler erarbeitet worden sind, wenn wir uns vergegenwärtigen, wie durch ihn die Hygiene zu der ehrenvollen Stellung erhoben ist, welche ihr heute niemand absprechen wird, wenn wir uns klar machen, welchen gewaltigen Schritt vorwärts die ganze Heilkunde durch seine Arbeiten gemacht hat, wenn wir endlich uns vor Augen führen, welchen gewaltigen Kulturfortschritt, welchen unendlichen Segen für das ganze Menschengeschlecht sein Wirken und Schaffen gezeitigt hat, dann müssen wir in dankbarer Bewunderung zu ihm aufblicken und ihm, dem großen Forscher und Meister, den goldenen Lorbeerkranz reichen.

Exegit monumentum aere perennius!

Unsere Wünsche aber, welche wir ihm darbringen zu seinem 60. Geburtstage, den er auf dem Pfade der Forschung im fernen Afrika verlebte, wollen wir zusammenfassen in dem einen Wunsche: Wie es dem „Vater der Mikrographie“, Antony van Leeuwenhoek, ver-

gönnt gewesen ist, noch über die Neunzig hinaus mit seinen geliebten Mikroskopen die Wunder der Kleinlebewesen zu schauen, so möge es unserem Robert Koch, dem „Vater der Bakteriologie“, vergönnt sein, bis in das gleiche Alter in jugendlicher Frische des Körpers und des Geistes uns siegreicher Führer zu sein in dem Kampfe gegen die furchtbarsten Feinde der Menschen und Tiere, in dem Kampfe gegen die krankheitserzeugenden Mikroorganismen, welchem er sein ganzes arbeitsreiches Leben geweiht¹⁾!

Nachdruck verboten.

Ueber die intracellulären Toxine gewisser Mikroorganismen.

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Allan Macfadyen und Sydney Rowland.

In den Verhandlungen der Royal Society. Vol. LXXI. p. 77 zeigten wir, daß der Typhusbacillus ein intracelluläres Toxin in sich enthalte. Dieses Toxin haben wir mehrfach sorgsam untersucht und kommen zu dem Schlusse, daß seine Eigenschaften spezifischer Natur sind (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. No. 7 u. 8).

Die folgenden Organismen sind seitdem von uns nach derselben Methode zu dem Zwecke untersucht worden, um festzustellen, ob sie irgend welche intracelluläre Toxine in sich enthalten, nämlich: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *B. enteritidis* (Gärtner), *B. tuberculosis* und *B. diphtheriae*.

Wir dürfen daran erinnern, daß die angewandte Methode darin besteht, die von anhaftender Materie befreiten Organismen vermittelt intensiver Kälte hinreichend bröcklig zu machen, um ihre mechanische Zerkleinerung zu ermöglichen, und daß aus der so erzielten Materie ein wässriger Extrakt gewonnen und danach durch Zentrifugieren von suspendierten Teilchen befreit wird.

Streptococcus pyogenes: Dieser Organismus wurde in 1-proz. Peptonbouillon gezüchtet mit verhältnismäßigem Zusatz von frischem, nicht erwärmtem Pferdeserum. Der Organismus wurde in Salzlösung gründlich gewaschen und, wie oben angegeben, desintegriert. Das gewonnene Extrakt war eine 10-proz. Lösung, entsprechend den Zellenbestandteilen, die in Salzlösung löslich waren. Diese Masse, obwohl vollkommen klar, enthielt eine beträchtliche Menge Eiweißstoffe und war für Meerschweinchen in den folgenden Dosen und Zeiten giftig: 5 Meer-schweinchen erhielten intraperitoneal 2 ccm, 1 ccm, 0,5 ccm, 0,3 ccm und 0,1 ccm. Die Tiere verendeten in 3½ bzw. 4¼, 3½, 4½ und 6 Stunden.

Die verwendeten Zellsäfte und die Bauchhöhle der Tiere waren steril. Der tödliche Ausgang erfolgte daher durch Vergiftung mit gewissen löslichen, cellulären Bestandteilen des *Streptococcus pyogenes*, welche nach vollständiger Desintegration der Zellen gewonnen waren.

Staphylococcus pyogenes aureus: Der virulente Organismus wurde auf der Oberfläche von Nähragar gezüchtet und in Salzlösung

1) Mit gütiger Erlaubnis der Redaktion abgedruckt aus Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXIX. 1903. No. 50.

eine Emulsion bereitet, aus welcher die Organismen durch Zentrifugieren entfernt wurden; dann wurden sie gewaschen und wie vorher behandelt. Der 10-proz. Zellsaft war in den folgenden Dosen toxisch: 4 Meerschweinchen erhielten intraperitoneal 2 ccm, 1 ccm, 0,5 ccm und 0,3 ccm. Die Tiere starben in 2 $\frac{1}{2}$ bzw. 8, 3 und 8 Stunden. Das Zellplasma und die Bauchhöhle der Tiere war steril. Es ergab sich, daß der *Staphylococcus pyogenes aureus* gleichfalls ein intracelluläres Toxin mit akuten giftigen Eigenschaften enthielt.

Es war ferner möglich, Meerschweinchen gegen das intracelluläre Toxin durch die Anwendung des Serums von Kaninchen zu schützen, welche wiederholte subkutane Einspritzungen der toxischen Zellsäfte erhalten hatten.

Bacillus enteritidis (Gärtner): Dieser Organismus wurde in derselben Weise wie der *Staphylococcus pyogenes aureus* gezüchtet und behandelt und toxische intracelluläre Säfte wurden gleichfalls gewonnen. Das 10-proz. Extrakt in Dosen von 1 ccm, 0,5 ccm, 0,3 ccm und 0,2 ccm war in ungefähr 12 Stunden nach intraperitonealer Einspritzung für Meerschweinchen tödlich, d. h. mit den von uns verwendeten Kulturen. Die Zellsäfte und die Bauchhöhle der Tiere waren in jedem Falle steril.

Die Zellsäfte des Diphtherie- und Tuberkelbacillus sind auf dieselbe Weise gewonnen worden und wir machen sie zum Gegenstande weiterer Experimente.

Die Zellsäfte des Tuberkelbacillus, wie hier bemerkt werden mag, lassen sich mit ziemlicher Leichtigkeit und Schnelligkeit herstellen und ihr Studium wird dadurch bedeutend erleichtert. Bei dem Verfahren der Herstellung von Kochs neuem Tuberkulin sind ungefähr 7 Tage nötig, um ein Desintegrieren der Bacillen zu bewerkstelligen. Vermittelst der Zerkleinerungsmethode bei sehr niedrigen Temperaturen erlangt man das Zellplasma des Tuberkelbacillus in ebensovielen Stunden.

Lister Institute of Preventive Medicine,
London, Oktober 1903.

Nachdruck verboten.

Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen).

Von Prof. Dr. **H. Preisz** in Budapest.

Mit 2 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Nur im jüngsten Stadium zeigt sich die säurefeste Substanz als ein in der Achse der Zelle gelegenes, uneben und unscharf begrenztes, krümeliges Streifenchen.

Ist es nach den bisher angeführten Bildern (Hantelform, Einschnürung) schon wahrscheinlich, daß das Zentralplasma und somit die in ihm sich entwickelnden säurefesten Körper teilungsfähig sind, so läßt sich eine Teilung derselben, gleichzeitig mit der Zellteilung, nicht selten ganz deutlich und unzweifelhaft beobachten.

Die Figuren 143 und 144 zeigten uns Zellen, deren Leiber durch je eine ungefärbte, glänzende Querplatte in zwei Hälften geteilt sind; wo diese Querplatte den länglichen säurefesten Körper trifft, ist dieser tief, fast bis zur vollständigen Zweiteilung eingeschnürt (Fig. 104, 143) oder gänzlich in zwei Hälften geteilt (Fig. 111, 112, 144). Wir haben somit das Bild einer direkten Teilung des säurefesten Körpers vor uns. Ähnliche Teilungserscheinungen finden sich auch dann noch, wenn die säurefesten Körper eine enorme Größe erreicht haben.

Das weitere Schicksal der säurefesten Körper ist, ebenso wie ihr Auftreten, von der Sporenbildung abhängig. Je rascher und vollkommener die Sporulation, um so mehr und schneller schwinden sie, so daß vorher reichliche säurefeste Körperchen führende Kulturen nach vollendeter Sporenbildung viele Zellen ohne solche Körnchen aufweisen; ein Teil der Zellen besitzt jedoch neben der Spore noch ein oder auch mehrere säurefeste Kügelchen (Fig. 138, 139, 141, 142).

In Präparaten aus Blut und Organen von Milzbrandleichen konnte ich nur ausnahmsweise säurefeste Körnchen nachweisen.

Unter Umständen, besonders bei träger Sporenbildung, noch mehr aber in sekundären Kolonien, kann sich die Entwicklung der säurefesten Substanz wesentlich anders gestalten; diese wächst hier oft zu kugeligen, scholligen oder cylindrischen Gebilden an, die die Maße einer Spore weit überschreiten und die zuweilen fast den ganzen Zellkörper ausfüllen. Häufig trifft man lange und dicke (sekundäre) Bacillen, deren mittlerer Teil durch den säurefesten, länglichen Körper allein gebildet ist; sehr häufig ist der Bacillus an dieser Stelle mehr oder weniger eingeschnürt oder es läßt sich eine auch durch den säurefesten Körper ziehende Querteilung der Zelle erkennen (Fig. 145—152, auch 103—110).

In langen, geschlängelten Bacillen sekundären Charakters können einzelne, und zwar recht lange, Abschnitte aus säurefester Substanz bestehen (Fig. 152).

Endlich erscheint die säurefeste Substanz auch frei zwischen Bacillen liegend, in sehr verschieden gestalteten Formen, in Kugeln, Ovalen, Tropfen, Biskuits, auch in stumpf verästelten Formen, deren Größe oft sehr beträchtlich ist und die einer Spore vielfach übertrifft (Fig. 153—157). Um diese säurefesten Schollen läßt sich zuweilen noch ein Plasmahof erkennen (Fig. 159). Oft aber ist der monströse säurefeste Körper ringsherum von einem deutlichen, hellen Saum (Zellmembran) umgeben; er scheint in diesen Fällen den ganzen Zellenleib zu erfüllen. Zuweilen sind solch große Schollen an der Peripherie dunkler gefärbt und besitzen im lichterem Zentrum einen oder einige kleinere oder größere schwarze Kerne, so wie sie bereits von Bunge und später von Krompacher abgebildet wurden.

Endlich kann diese Substanz eine derartige Aenderung erfahren, daß die Säurefestigkeit nur im Zentrum der Körper erhalten bleibt oder zuweilen auch gänzlich verloren geht.

3. Die metachromatische Substanz (Untersuchung von Trockenpräparaten).

Im folgenden berichte ich über die Ergebnisse meiner Untersuchungen an Trockenpräparaten, die mir um so unerläßlicher schienen, da ja die Angaben der meisten Autoren sich eben auf solche Präparate beziehen.

Färbung mit Anilinwassergentiana (Deckglas trocknen, durch Hitze

fixieren, 10—20 Sekunden färben, Entfärbung mit 1-proz. Essigsäure, Untersuchung in Wasser).

Betrachtet man so gefärbte Präparate aus gleichalten Kulturen verschiedener Stämme, so kann man sich leicht davon überzeugen, daß der allgemeine Charakter der Bilder je nach Größe und Gestaltung der einzelnen Zellen sehr verschieden sein kann. Die Form der Zellen ist zumeist eine streng cylindrische, selten nur eine leicht tonnenförmige; das Verhältnis der Dicke zur Länge variiert zwischen 1 : 1 bis 1 : 4; die Schwankung des Dickendurchmessers von Zellen verschiedener Stämme kommt beiläufig dem Verhältnisse von 2 : 3 gleich.

Das Plasma junger Bacillen färbt sich mit Anilinwassergentiana tief dunkel und gibt den Farbstoff auch auf Behandlung mit Essigsäure nicht leicht ab; bei gehöriger Entfärbung aber läßt sich an ganz jungen Zellen auch hier jene Beschaffenheit des Plasmas unschwer erkennen, die sich an frischen Zellen in verdünntem Methylenblau sichtbar macht, nämlich ein ziemlich breites Ektoplasma (Wandbeleg) und ein ebenfalls dunkles Plasmazentrum und zwischen beiden eine helle Zone. Das Plasmazentrum hat einen rötlichen Farbenton.

Das erste, was sich im Zellinhalte differenziert, sind helle, ungefärbte Teilchen, und zwar in einer Zelle zumeist eins oder zwei, selten deren mehr; sie liegen in der Zellachse, sind von verschiedener Größe, besitzen vorläufig keine scharfen Umrisse und keinen besonderen Glanz (Fig. 84). Oft liegen zwei helle Körperchen im mittleren Teile einer Zelle, einander fast berührend, und zuweilen zieht zwischen beiden eine feine Querscheidewand durch den Zellkörper.

Als weitere Differenzierung erscheinen im Zentrum der hellen Körperchen gut gefärbte Punkte; die gefärbten Bacillen enthalten sonach in diesem Stadium zumeist einen oder zwei ungefärbte, helle Flecke mit einem gefärbten Zentralkörperchen (Fig. 91, 93 u. a.). Da der Farbenton dieses Körperchens fast ohne Ausnahme verschieden von dem des Gentianaviolett, nämlich rötlich oder rot ist, so bezeichne ich dieses Zentralkörperchen als metachromatisches Körnchen, als metachromatische Substanz.

Neben einem oder zwei ungefärbten Flecken mit metachromatischem Körnchen kann sich zuweilen auch ein solcher ohne letzteres finden (Fig. 110).

Sporenanlagen und polar gelegene Vorsporen erscheinen nach diesem Verfahren als kugelige und halbkugelige oder linsenförmige, schwarzviolett gefärbte Gebilde, die einem der Pole aufsitzen, von diesem aber durch einen ungefärbten Saum getrennt sind (Fig. 84, 86, 88—90); unreife Sporen (freie Sporen) hingegen zeigen sich als ebenfalls tief gefärbte runde oder ovale Körper, die zwar einem Pole genähert, aber im Inneren der Zellen liegen, eventuell von einem hellen Hofe umgeben (Fig. 85, 92, 93).

Liegt in der einen Hälfte des Bacillus eine unreife Spore, in der anderen aber ein heller Fleck mit einem metachromatischen Körnchen, so wird man sehr leicht verführt, die Spore einfach aus der Vergrößerung des letzteren Körnchens hervorgehen zu lassen, um so mehr, da beide, nämlich Sporenanlage und metachromatisches Körnchen, gefärbt und von einem hellen Hofe umgeben sind, und man tatsächlich den Eindruck bekommt, als wäre der eine helle Körper zur Spore ausgewachsen, während der andere im Wachstume zurückblieb; eine Kontrolluntersuchung frischen Materials in verdünnter Fuchsinlösung beweist

aber zur Genüge, daß der helle Körper mit metachromatischem Zentrum, der (wie wir später sehen werden) identisch ist mit der säurefesten Substanz, von der Sporenanlage und der jungen Spore gründlich verschieden ist.

Nach Reifung der Spore färbt sich das übrige Plasma der Zelle, ob es noch einen hellen Körper enthält oder nicht, der Regel nach nur mehr sehr blaß, es scheint seine vegetative Fähigkeit eingebüßt zu haben und abgestorben zu sein, sein Schicksal ist der Zerfall. Dagegen kommt es aber auch vor, daß das der Spore gegenüberliegende und von ihr durch einen hellen Saum getrennte Bacillenende sich noch gut färbt und den Eindruck eines noch lebenden Zellteiles macht (Fig. 124), auch kann es noch einen hellen Körper mit oder ohne dunkles Körnchen in sich schließen (Fig. 94, 95).

Vergleicht man die Bilder, die uns die Färbung mit Anilinwassergentiana einerseits und jene mit Karbolfuchsin und Schwefelsäure andererseits liefert, so ergibt sich folgender lehrreicher Unterschied.

Wenn in jungen Bacillen bei reger Sporenbildung nach Gentianafärbung helle Körper mit oder ohne rötliche (metachromatische) Körperchen erscheinen, so färben sich mit Karbolfuchsin säurefeste Körper von der Größe und Lagerung jener hellen Körper, d. h. mit anderen Worten: Karbolfuchsin färbt die säurefesten Körper ganz, Anilinwassergentiana hingegen nur einen zentralen Teil derselben, nämlich nur die metachromatische Substanz.

Noch instruktiver sind besonders sekundäre Bacillen mit großen, ovalen, säurefesten Körpern oder mit säurefesten Abschnitten; letztere werden mit Karbolfuchsin ganz rot gefärbt, während sie sich nach Gentianafärbung als ungefärbte, glänzende Körper darstellen, die im axialen Teile ein hellrotes (metachromatisches) Körperchen einschließen (Fig. 98 bis 100, 103, 110); ähnliche hellrote Körper findet man nach Gentianafärbung auch noch in freiliegenden Kugeln und in Sporen oft sehr ähnlichen Gebilden derselben Substanz (Fig. 115).

Die säurefesten Körper (ihre jüngsten Stadien ausgenommen) besitzen sonach einen Kern, der sich mit Anilinwassergentiana rötlich (metachromatisch) färbt.

Färbung mit Karbolmethylblau. Die Färbung geschah mit folgender Lösung: 1,5 g Kochsches Methylblau, 20 g absoluter Alkohol, 100 g 5-proz. Karbolwasser, einige Minuten, mit oder ohne gelinde Erwärmung, folgt Abspülung mit Wasser, Untersuchung in Wasser.

Zum Studium des metachromatischen Kernes eignet sich diese Karbolmethylblaulösung noch besser als Gentianaviolett, weil man bei ersterer Lösung nie ein Unsichtbarwerden jener Substanz durch Ueberfärbung zu befürchten hat, während nach Gentianafärbung die metachromatische Substanz nur nach einer gehörigen Entfärbung mittels Essigsäure gut sichtbar wird. Ferner habe ich nach Methylblaufärbung in jener Substanz oft eine gewisse Struktur erkannt, während selbe nach Gentianafärbung stets homogen erschien. Karbolmethylblau färbt das Zellplasma blau, läßt die säurefeste Substanz als scharf begrenzte Körper gänzlich ungefärbt, färbt aber die metachromatischen Kerne der letzteren rot oder violett.

Die allgemeinen Eigenschaften dieser metachromatischen Substanz, wie sie sich nach Färbung mittels Karbolmethylblau erkennen lassen, kann ich im folgenden zusammenfassen.

Die Metachromasie ist in allen Abstufungen zu treffen, vom dunkel-

sten Schwarzviolett bis zum hellen, feurigen Rot; ausnahmsweise färbt sich aber diese Substanz gar nicht metachromatisch, sondern nur dunkelblau, besonders in ihrem jüngsten Stadium; ihre Umrisse sind scharf, aber oft uneben; an größeren Exemplaren ist entschieden zu erkennen, daß sie nicht homogen ist, sondern aus Körnchen oder Fädchen besteht, die zuweilen rosettenähnliche Häufchen oder dichte Knäuelchen zu bilden scheinen (Fig. 169, 170, 195).

Das quantitative Verhältnis zwischen säurefester und metachromatischer Substanz kann ein sehr verschiedenes sein; während der Regel nach letztere nur einen kleinen zentralen Teil der säurefesten Körper einnimmt (Fig. 171, 172), findet man ein anderes Mal den metachromatisch gefärbten Kern fast ebenso groß wie die säurefesten Körper selbst (Fig. 169, 173, 178); nur eine schmale, ungefärbte und glänzende Schicht um den metachromatischen Körper deutet darauf hin, daß letzterer noch von einer anderen Substanz umgeben ist.

Man gewinnt durch diese Bilder oft den Eindruck, daß säurefeste und metachromatische Substanz nicht scharf getrennt sind, sondern daß sie einander durchflechten.

Da mit Karbolfuchsin und Schwefelsäure behandelte säurefeste Körper der Regel nach den metachromatischen Kern nicht erkennen lassen, so ist anzunehmen, daß sich nach diesem Verfahren beide Substanzen ähnlich färben; denn auch die metachromatische Substanz erweist sich säurefest.

Werden Präparate kalt oder warm mit Karbolmethyleneblau gefärbt und nachher mit 1—2-proz. Salpetersäure behandelt, so bleiben die metachromatischen Körper gefärbt, ja sogar 25-proz. Salpetersäure oder 5-proz. Schwefelsäure scheint nur einen Teil derselben zu entfärben.

Der metachromatische Kern taucht im Zentrum des säurefesten Körpers auf, sobald dieser eine gewisse Größe erreicht hat; anfangs ein eben sichtbares Körnchen (Fig. 167, 168), wächst er sodann gleich mit dem säurefesten Körper und erfüllt letzteren oft bis auf eine äußerste, schmale Zone.

Untersucht man ganz junge Kulturen, die noch weit vor der Sporenbildung stehen, oder Kulturen, die überhaupt träge Sporenbildner sind, so wird man in ihnen zwar kleine säurefeste Körper, aber noch keine metachromatischen Kerne nachweisen können (Fig. 191). Erst wenn jene etwa $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ des Bacillendurchmessers erreichen, dann gelingt es, in ihnen einen metachromatischen Kern zu entdecken (Fig. 177, 182, 183).

Mit der Teilung des säurefesten Körpers geht die des metachromatischen Kernes einher; häufige Bilder bezeugen, daß die Teilung des letzteren jener des säurefesten Körpers vorangehen kann. Man bekommt nicht selten ovale oder längliche, noch nicht eingeschnürte, säurefeste Körper zu sehen, die einen mehr oder weniger eingeschnürten oder bereits doppelten (einem Diplococcus ähnlichen) Kern beherbergen (Fig. 174, 179).

Sporenanlagen und Vosporen (unreife Sporen) werden durch Karbolmethyleneblau dunkelblau gefärbt und erscheinen in derselben Gestalt und Lagerung wie nach Färbung mit Anilinwassergentiana (Fig. 167, 175, 176, 180, 181, 196).

Liegt in der einen Hälfte der Zelle eine unreife Spore, in der anderen aber ein größerer metachromatischer Körper, so kann nach der

Färbung mit Karbolmethylenblau, ebenso wie nach jener mit Anilinwassergentiana, ein für die Deutung der Sporenbildung sehr trügerisches Bild entstehen; das eine Bacillenende enthält nämlich ein blaues Kügelchen, die unreife Spore, das andere aber ein rötlich-violettes, nämlich einen metachromatischen Körper; beide können nach Größe und Gestalt einander ähnlich sein, und man kann leicht versucht werden, anzunehmen, daß das eine Gebilde aus dem anderen entstanden ist und nur mittels anderer, namentlich schonenderer Methoden angestellte Vergleiche machen es unzweifelhaft, daß die blaugefärbte, junge Spore eine ganz andere Genese hat als die metachromatische Substanz. Dasselbe gilt auch von ovalen, frei oder in Zellen liegenden, Sporen oft äußerst ähnlichen, säurefesten, mit Karbolmethylenblau behandelt, nur in ihrer Achse ein rötliches Stäbchen aufweisenden Gebilden (Fig. 171, 172).

Nach Zerfall der Zellen werden säurefeste Körper jeder Größe und Gestalt, besonders kugelige, mit metachromatischen Körnchen, oft sehr reichlich freiliegend, angetroffen; ihr Zentrum enthält ein oder mehrere Körner metachromatischer Substanz, seltener ist letztere in ihnen gleichmäßig, d. h. auch in ihrer Peripherie verteilt (Fig. 184, 185, 194).

4. Bacillenformen sekundärer Kolonien.

Während Bacillen primärer Rasen der Regel nach, wenigstens in frischen Kulturen, eine monotone Gleichförmigkeit an den Tag legen, ist der Formreichtum der Zellen aus einer sekundären Kolonie überraschend; es gehört keine große Übung zur Entscheidung dessen, ob ein mikroskopisches Präparat aus einem primären Kulturrasen oder aber aus einer sekundären Kolonie stammt.

Im allgemeinen sind die Bacillen sekundärer Kolonien gekennzeichnet durch weitgehenden Polymorphismus, durch Mannigfaltigkeit ihrer Größe sowie durch deutliches Hervortreten der säurefesten Körper und durch die oft stark ausgesprochene metachromatische (rötliche) Färbung der Zentralkörperchen in letzteren.

Die sekundären Bacillen weisen alle denkbaren Formen auf; zu meist sind sie länger als primäre Bacillen, in kurzen Verbänden oder alleinstehend, dick und plump, an den Enden abgerundet, von verschiedener Länge, oft ungleichmäßig gequollen und unregelmäßig gekrümmt; ihre Gestalt erinnert häufig an die des Blutegels in seinen verschiedenen Formäußerungen oder an die der Kaulquappen; auch zitronen- oder kugelförmige Zellen fehlen nicht. Längere Zellen sind häufig wenig geschlängelt oder verdicken sich an einem Ende zu einer ansehnlichen Kugel (Fig. 98—110). Längere, aus cylindrischen Zellen bestehende, primären Ketten ähnliche Verbände werden in sekundären Kolonien selten gefunden. Entsprechend der äußeren Form ist auch der innere Bau der sekundären Bacillen formreicher; säurefeste Körper sind in allerverschiedenster Anzahl, Gestalt und Größe vorhanden, häufig sind sie länglich mit eingeschnürtem oder doppeltem metachromatischem Kern oder sie sind gleichzeitig mit der Zelle in Teilung begriffen (Fig. 104).

Auffallend und häufig sind jene Formen, zweifellos Vorstufen zur Teilung, wo der Zelleib um den länglichen säurefesten Körper oder auch dieser selbst oft sehr beträchtlich eingeschnürt erscheint.

Lange Zellen besitzen nicht selten eine Reihe von säurefesten Körpern mit oder ohne metachromatische Kerne (Fig. 110).

Enorm große Zellen mit großen und mehrfachen metachromatischen

Körpern, wie sie Fig. 106 und 107 darstellt, habe ich nur in einem Falle (Stamm II) gesehen.

Auch in sekundären Kolonien müssen Sporen normalen Aussehens reifen, man findet wenigstens solche in den obersten Schichten sekundärer Kolonien, wo ihre Beimengung aus dem tiefen primären Rasen als ausgeschlossen erachtet werden kann; ferner sind Sporen in älteren Sekundärkolonien zumeist zahlreicher vorhanden als in jüngeren.

Noch muß ich erwähnen, daß Bacillen und Bacillengruppen sekundären Charakters manchmal auch in Präparaten aus primären Rasen zu sehen sind, was sich wohl daraus erklärt, daß die sekundäre Wucherung in solchen Fällen für das freie Auge unsichtbar geblieben ist.

Keimen sonach Sporen an ihrer Bildungsstätte wieder zu vegetativen Formen (Bacillen) aus, die ihrerseits wieder Sporen zeugen, so ist es klar, daß die Sporenbildung nicht, wie ehemals vielfach angenommen wurde, als Schlußakt der vegetativen Tätigkeit der Bakterienzelle aufgefaßt werden darf, der die Zelle bei Eintritt ungünstiger Lebensverhältnisse in eine widerstandsfähige Dauerform versetzt, sondern daß die Sporulation, als ein dem Entwicklungskreise des normalen Milzbrandbacillus eigener Vorgang, sich auch in einer und derselben Saat wiederholen kann, ebenso wie die Teilung der Zelle, wenn auch unvergleichlich seltener als letztere.

Indem ich bezüglich meiner weiteren Bemerkungen über die bisher geschilderten Formelemente auf meine Schlußbetrachtungen verweise, lasse ich die Entwickelung der Spore folgen, so wie ich sie am Milzbrandstäbchen und an einigen anderen Bacillen beobachtet habe.

IV. Sporenbildung.

1. Beim Milzbrandbacillus.

Weit am besten bewährte sich mir beim Studium der Sporenbildung die Untersuchung frischen Materials in verdünnter Fuchsinlösung.

Die ersten Anzeichen der Sporenentwicklung geben sich bei energischen Sporenbildnern in Agarkulturen (bei 37° C) bereits um die 6. Stunde zu erkennen. Selbstverständlich muß man sich hüten, solche Sporen als neugebildete zu betrachten, die zu dieser Zeit und auch später noch, ohne ausgekeimt zu haben, von den ausgesäten Sporen zurückgeblieben sein konnten.

Die Bildung der Sporenanlage wird eingeleitet durch das Auftreten einer durch Fuchsin intensiv färbbaren, chromatischen Substanz im einen Ende der Zelle. Diese Substanz liegt der Zellmembran innigst an und ist offenbar durch eine Modifikation der äußersten Schicht des Zellprotoplasmas hervorgegangen; gleichzeitig verliert die Zelle an diesem Pole zweifellos, durch Spannung infolge der jungen Anlage, oft ihre eckige Form und wird abgerundet, kuppenförmig. Zuweilen läßt sich erkennen, daß die Zellmembran im Bereiche der chromatischen Substanz mehr oder minder gequollen ist.

In diesem Stadium erscheint die allerjüngste Sporenanlage, durch das Mikroskop betrachtet, in ungefärbtem Zustande und bei hoher Einstellung als ein stark lichtbrechendes, in gefärbtem Zustande (in dünner Fuchsinlösung) als intensiv gefärbtes, schmales, sichelförmiges Segment; stereoskopisch genommen, ist es eine dem Pole aufsitzende Kappe (Fig. 17, 28, 56, 57 u. a.). Erscheinen diese Anlagen an den benach-

barten Polen zweier Bacillen, so berühren sich die Segmente mit ihren Konkavitäten.

Fast ebenso häufig aber findet man die chromatische Substanz nicht im Zentrum der Kuppe am stärksten angehäuft, sondern mehr oder weniger seitwärts davon, also dort, wo der abgerundete Pol in die geraden Seitenwände der Zelle übergeht; es ragen hier stark gefärbte Vorsprünge in die Zellsubstanz, die, im Mikroskope von oben her gesehen, als einander gegenüberstehende Zapfen erscheinen, die aber wohl häufig bereits in diesem Stadium Querschnittsbilder eines Ringes (eines Plasmadiaphragmas) darstellen (Fig. 16).

In letzterem Falle ist die Wand der Kuppenhöhe entweder unverändert, nämlich dünn, linear, oder sie ist von innen ebenfalls mit einer, zwar minder breiten, chromatischen Schicht belegt (Fig. 56).

Wo die chromatische Substanz lediglich seitwärts, in den Ecken zwischen Quer- und Seitenwänden der Bacillen (Fig. 26), oder, was gleichfalls vorkommt, an den Seitenwänden der Bacillenenenden auftaucht (Fig. 25), dort ist auch die Abrundung der Pole nur wenig ausgesprochen oder gar nicht vorhanden; übrigens kann die Polwand mit chromatischer Substanz belegt sein, ohne dabei abgerundet zu werden (Fig. 19).

In diesem Stadium bergen die Zellen schon fast ausnahmslos einen oder mehrere helle, ungefärbte Körnchen und Kügelchen, nämlich die säurefesten Körper, wovon man sich durch entsprechende Färbeverfahren überzeugen kann.

In nächster Nähe der chromatischen Substanz, nicht selten ihr anliegend oder durch sie halb verdeckt, macht sich ein runder, zuweilen etwas länglicher, ebenfalls intensiv gefärbter Kern erkennbar, der jenen in den Zellen gewöhnlich vorhandenen und bereits beschriebenen roten Körnchen ganz ähnlich ist, diese aber an Größe häufig übertrifft. Dieser Kern ist oft ringsherum oder, wo er der chromatischen Substanz fest anliegt, bloß gegen den sterilen Pol von einem hellen Hofe umgeben (Fig. 19—21, 45).

Als ein weiterer Schritt zur Ausbildung der Sporenanlage erfolgt nun die Abgrenzung der fertilen Polgruppe samt Kern gegen den sterilen Zellteil. Diese Abgrenzung wird bewerkstelligt durch die seitlichen Teile des chromatischen Plasmas, die sich zu einer anfangs ziemlich breiten und unscharf begrenzten Querwand (Diaphragma) ausbilden. Je nach Verlauf dieser Querplatte, besitzt der durch sie abgesonderte, fertile Pol eine bikonvexe, plankonvexe oder aber eine konkavkonvexe Gestalt. Durch die in diesem Stadium vorhandenen verschiedenen Bilder glaube ich die Ueberzeugung gewonnen zu haben, daß die Querplatte aus jenen chromatischen Vorsprüngen herauswächst, die seitwärts im fertilen Pole, d. h. in der Nähe der Ecken des fertilen Zellendes, oft als erstes Anzeichen der Sporenbildung auftauchen. Diese Plasmavorsprünge sind zu Beginn vielleicht nur einzelne Höcker; später aber stellen sie gewiß die Vogelperspektive eines die Innenfläche des fertilen Poles auskleidenden Ringes dar, woraus es sich erklärt, daß das fertile Bacilleneende im Bereiche des Wandbelages dunkel gefärbt erscheint (Fig. 22, 29, 30, 44).

Der ringförmige chromatische Wandbelag stellt also ein irisartiges Diaphragma dar, das, sich verengernd und endlich schließend, die Sporenanlage vom übrigen Zellkörper trennt. Die der Zellwand anhaftenden Teile dieses Diaphragmas sind dick, das Zentrum hingegen

ist dünn (Fig. 27, 36). Im späteren Verlaufe der Entwicklung tritt an die Stelle dieses ziemlich breiten und unscharf konturierten Diaphragmas eine dünne, scharfe Linie als Grenze zwischen Sporenanlage und Mutterzelle (Fig. 24, 31 u. a.).

Hiermit ist die erste Phase der Sporenbildung vollendet, und was zunächst folgt, ist wesentlich nur ein Wachstum der Sporenanlage.

Häufig jedoch erscheint die jüngste Anlage zur Sporenbildung in weniger auffallender, wenn auch prinzipiell in ähnlicher Weise; es ergeben sich hierbei folgende Bilder. In nächster Nähe des einen, nicht oder kaum abgerundeten Pols hat sich eine feine oder etwas dickere Querwand gebildet, die ein ganz kurzes Polsegment vom übrigen Zellkörper absondert (Fig. 48—51); die Breite dieses Segmentes ist die der Zelle, seine Länge aber beträgt bloß $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$ derselben. Oft zieht diese Querwand durch ein intensiv gefärbtes Körperchen, so daß letzteres zur einen Hälfte im kleinen Polsegmente, zur anderen Hälfte im Zellkörper liegt.

Man könnte glauben, daß es sich hier um eine asymmetrische Zellteilung handle, wenn man nicht nebeneinander, oft in einer Kette, alle Uebergangsformen von solchen Polsegmenten bis zu großen, kugelförmigen Sporenanlagen fände (Fig. 51). Hiervon abgesehen, habe ich diese kleinsten Polsegmente nur bei Eintritt der Sporenbildung, nicht aber bei jüngeren Bacillen gesehen, weshalb ich nicht zögere, auch diese Gebilde für Sporenanlagen zu halten.

Ausnahmsweise entsteht die Sporenanlage in einer Ecke der Zelle so, daß die sie gegen den Zellkörper isolierende Scheidewand von der Querwand zur Seitenwand der Zelle zieht (Fig. 35, 55); noch seltener sah ich die Sporenanlage derart entstehen, daß das eine Bacillenecke anschwellt und innen mit chromatischem Plasma belegt war, welches letzteres sich gegen das übrige Zellplasma abzugrenzen schien (Fig. 52).

Ist die Sporenanlage durch das neugebildete Diaphragma vollends abgegrenzt, so tritt sie in die zweite Phase ihrer Entwicklung; in dieser Phase sind außer dem Wachstume der Sporenanlage bis zu ihrem Maximum, d. h. bis zur Vorspore, noch einige andere Vorgänge begriffen.

Die Sporenanlagen geben sich nun im fertilen Zellende als in axialer Richtung der Zelle mehr oder weniger abgeflachte oder bereits regelmäßig kugelige Gebilde zu erkennen, die gegen das sterile Zellenende durch eine scharfe, der normalen Zellenkontur ähnliche Linie abgegrenzt sind und die sich oft etwas dunkler färben als das übrige Zellplasma (Fig. 31, 51 u. a.); von chromatischer Substanz ist in solchen Sporenanlagen weder an der Polkuppe, noch an sonstigen Teilen ihrer Wandung mehr etwas zu erkennen, wenigstens nicht in der vorhin beschriebenen Form; dagegen findet man im Inneren solcher Anlagen häufig ein dunkel gefärbtes Kügelchen, oft der Wand anliegend (Fig. 34). Nicht weniger häufig liegt jedoch das dunkel gefärbte Körnchen derart in der Konturlinie (der neugebildeten Scheidewand) der Sporenanlage, daß es halb in die Sporenanlage, halb in die Mutterzelle zu gehören scheint (Fig. 18, 32, 51).

Das Wachstum der Sporenanlage geschieht vornehmlich in der Längsrichtung der Zelle; ihre definitive Form ist die einer Kugel oder eines kurzen Ovals von der Breite der Zelle selbst, ihre Größe übertrifft somit jene der reifen Spore zumeist nicht unbeträchtlich.

Gleichzeitig mit der Größenzunahme der Sporenanlage erfolgt ihre

Ablösung von der Wand der Mutterzelle. Erst mit der Wand des fertilen Pols innig verwachsen, lösen die Sporenanlagen sich später von der Polwand ab und rücken zumeist gegen die Mitte des Zellraumes, wodurch der fertile Pol der Zelle wieder frei wird. Die Konturen der Anlagen sind nun haarscharf und entweder ebenso zart, wie jene der Zellen oder aber kräftiger, in wässrigem Fuchsin sich dunkel braunrötlich färbend; ihr Inhalt ist, abgesehen von dem jetzt nur mehr selten vorhandenen Kerne, homogen und etwas kräftiger gefärbt, als das umgebende Zellplasma (Fig. 37, 53). Dagegen verhält sich mit verdünnter Methylenblaulösung in frischem Material (zuweilen auch an Trockenpräparaten) die ausgewachsene Sporenanlage ganz ähnlich wie keimende Sporen und junge Keimlinge, nämlich es färbt sich die äußerste Schicht des Plasmas, ferner das Zentrum kräftiger, als der übrige Inhalt der Sporenanlage (Fig. 70, 72, 73); das dunkle Zentrum ist aber hier ebensowenig identisch mit dem durch Fuchsin färbbaren Körnchen wie in jungen Stäbchen, deren Zentralplasma es entspricht.

Das Wachstum der Sporenanlage hat somit ihr Maximum erreicht; ich bezeichne sie in diesem Stadium als Vorspore, weil, wie wir sehen werden, erst in ihr die Entwicklung der definitiven Spore vor sich geht.

Nicht selten wird die Vorspore an einer ihrer freien Seiten, zumeist an der dem sterilen Pole zugewandten, von einem hellen, ungefärbten, sowohl gegen die Vorspore wie gegen das Zellplasma scharf begrenzten, hellen, ungefärbten Meniskus umgeben (Fig. 36, 38). Meines Erachtens entstehen diese halbmondförmigen Lücken, diese Menisci, innerhalb des Häutchens der Vorsporen, und zwar durch Schrumpfung des Plasmas der letzteren; daß der Meniskus in der Vorspore selbst, und nicht — wie es wohl scheinen könnte — zwischen Vorspore und Zellplasma liegt, das beweisen aus Zellen frei gewordene Vorsporen mit deutlichen Meniscis, die man in Präparaten oft zahlreich findet (Fig. 73, 129).

In der Vorspore spielt sich nun die dritte Phase der Sporentwicklung ab, nämlich die Ausbildung der definitiven Spore. Wie erwähnt, besitzt die Vorspore zu dieser Zeit die Gestalt eines ganz kurzen, plumpen Ovals oder einer seitlich etwas abgeflachten Kugel, die oft mehr als die Hälfte des gesamten Zellraumes erfüllt.

Die Umbildung der Vorspore zur definitiven Spore besteht wesentlich in einer Differenzierung und substantiellen Umwandlung ihres Inhaltes; ein mit verdünnter Fuchsinlösung intensiv färbbares, kernartiges Körperchen besitzt die Vorspore in diesem Stadium nicht mehr; es scheint sich dieses Körperchen im Inhalte der Vorspore aufgelöst zu haben.

Nach begonnener Differenzierung erscheint im Zentrum der Vorspore ein mehr oder weniger längliches, ovales Gebilde, dessen Breite 1—2 Drittel der Breite der ganzen Vorspore beträgt (Fig. 39); dieses Gebilde wird zum Körper der definitiven Spore, weshalb ich es fernerhin als junge Spore bezeichnen will; um sie bildet die äußere Schicht der Vorspore somit einen ziemlich breiten Hof.

Anfangs färbt sich die junge Spore stärker als ihr Hof, später jedoch verliert sie ihre Färbbarkeit und wird allmählich glänzender und lichtbrechender; gleichzeitig werden ihre Umrisse schärfer und nach vollendeter Reifung der Spore gelblich oder bräunlich (Fig. 40, 41).

Der Hof, d. h. die äußere Schicht der Vorspore, wird zur Membran oder, besser gesagt, zur Schale der Spore, indem er der Regel nach mehr oder weniger zusammenschrumpft. Sowohl in Bacillen be-

findliche wie bereits freiliegende, reife Sporen können von einer breiten, rosa- bis dunkelrot sich färbenden Schale umhüllt sein, die zuweilen dunkle, derbe Umrisse besitzt (Fig. 43); häufiger aber reduziert sich der Hof auf eine dünnere oder ganz dünne Schale, die sich von der bräunlichen Außenschicht der Spore kaum abhebt, und in dünne Fuchsinlösung eingelegte Sporen lassen im allgemeinen nur eine breite, von außen rötlich gefärbte, nach innen aber bräunliche Konturlinie erkennen (Fig. 46). Der Regel nach ist aber die Schrumpfung des ursprünglich gleich breiten Hofes ungleichmäßig, derart, daß an beiden Polen der Spore, oder doch an einem derselben, ein halbmondförmiger Abschnitt des Hofes erhalten bleibt, während sich dieser an den Seiten der Spore zu einem dünnen Saum verschmälert (Fig. 47).

Die Umwandlung des Hofes um die reife Spore erfolgt nicht immer in ähnlicher Weise, und es fällt besonders bei Färbung mit Anilinswassergentiana auf, daß ein Teil der Sporen dunkel gefärbte, ein anderer Teil hingegen ganz farblose Schalen aufweist.

Niemals habe ich in Sporenanlagen und Vorsporen säurefeste oder metachromatische Körper gefunden, und niemals habe ich in einer Zelle mehr als eine Sporenanlage entstehen gesehen.

2. Bei anderen Bacillen.

Ich habe noch an zwei anderen Bacillen die Entwicklung der Spore genauer verfolgt, nämlich beim *Bac. tetani* und bei einem in ungenügend sterilisierter Bouillon gewachsenen *Bacillus* mittelmäßiger Größe. Der Gang der Sporentwicklung bei diesen beiden Bacillen ist jenem beim Milzbrandstäbchen in jeder Hinsicht ganz und gar ähnlich; nicht nur hinsichtlich der von mir unterschiedenen drei Hauptstadien, nämlich der Sporenanlage, Vorspore und definitiven Spore, sondern in jeder einzelnen Zwischenphase herrscht eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen der Sporenbildung dieser Bacillen und jener des Milzbrandbacillus. Eben deshalb glaube ich, indem ich auf die bezüglichen Figuren (Fig. 197—216) verweise, mich kurz fassen zu können und bemerke, daß ich auch hier lebende Kulturen in dünner Fuchsinlösung untersuchte.

a) *Bacillus tetani*. Die Sporenanlage taucht auch hier ohne Ausnahme stets in einem der beiden Pole auf; die ersten Anstalten zur Sporenanlage sind, gleichzeitig oder nacheinander, Schwellung des fertilen Pols, das Erscheinen chromatischer Substanz in der Kuppe oder seitwärts von dieser (Fig. 201—203). An letzterer Stelle bildet die chromatische Substanz zwei kleine, einander gegenüberstehende Höcker; sie sind der Ausdruck jenes Plasmaringes, der später als Diaphragma die Sporenanlage von der Mutterzelle trennt. Nicht selten springt dieser Ring auch nach außen über die Seitenlinien der Zelle vor, die Zelle ist sodann an seiner Stelle geschwollen (Fig. 204).

Der fertile, ein dunkel gefärbtes Körnchen enthaltende Pol schwillt an, wird durch den zum Diaphragma ausgewachsenen Plasmaring gegen das übrige Zellplasma abgegrenzt (Fig. 206, 207); die so entstandene Anlage wächst zu einer homogenen, runden Kugel an, nachdem die chromatische Substanz und, wie es scheint, stets auch das rote Körnchen schwindet, und somit ist die Vorspore entwickelt (Fig. 81, 208 bis 212). Letztere bleibt zwar im Pole, dieser aber schwillt zu einer Kugel an, deren Durchmesser das Doppelte, ja das Dreifache der Bacillendicke erreichen kann. Die zumeist runde oder nur wenig ovale Vorspore löst sich von der Wand der Mutterzelle ab (Fig. 216), und

nun beginnt in ihr die Differenzierung der definitiven Spore auf dieselbe Weise, wie beim Milzbrandstäbchen (Fig. 82, 83, 213—216). Zur Zeit des letzteren Vorganges ist die Mutterzelle oft bereits unfärbbar und in Zerfall begriffen.

Die roten Körnchen und Kügelchen im Tetanusbacillus und im zunächst zu beschreibenden Bacillus (Fig. 197—200, 217) sind in jeder Hinsicht jenen ähnlich, die ich im Milzbrandstäbchen gefunden habe und die ich für Zellkerne halte.

Ich muß noch erwähnen, daß ich mittels verdünnter Methylenblaulösung, oder auch nach Nakanishis Methode (weniger deutlich mit dünner Fuchsinlösung), in jüngeren Tetanusbacillen, ebenso wie in jungen Milzbrandstäbchen, eine dunklere Außenschicht, dann eine helle Zone, und inmitten dieser, zumeist in der Zellachse, ein wieder dunkleres, längliches Gebilde feststellen konnte (Fig. 79—83); letzteres ist zweifelsohne identisch damit, was Nakanishi für den Zellkern hält.

b) Die Sporenbildung des zweiten Bacillus ist, wie die Figuren 217—224 beweisen, in allen ihren Einzelheiten übereinstimmend mit den bereits besprochenen Bildern¹⁾.

Das fertile Zellenende schwillt oft stumpf spindelförmig an, die Spitze dieser Spindel wird durch eine Querwand vom übrigen Zellplasma abgeschieden als Sporenanlage, zumeist mit einem deutlich sichtbaren Körnchen; nicht selten liegt dieses Körnchen, wie beim Milzbrandbacillus, in der Grenzlinie der Sporenanlage (Fig. 222). Die Vorspore löst sich von der Zellwand (Fig. 223), ihre äußere Schicht wird zur Sporenschale, ihr zentraler Teil aber zur Spore (Fig. 224).

Die verschiedenen im Gange der Sporenbildung beobachteten Bilder ins Auge fassend, muß ich mir die Entwicklung der Sporenanlage folgendermaßen vorstellen.

Im einen Ende der Zelle erscheint knapp an der Zellmembran, der äußersten Plasmaschicht entstammend, eine chromatische Substanz (vom übrigen verschiedenes Protoplasma), die sich unter Beteiligung eines kernartigen Körpers gegen den übrigen Zellkörper scharf abgrenzt; diese Abgrenzung erfolgt allem Anscheine nach ebenso, wie in einer sich teilenden Zelle die junge Querwand, nämlich durch ein von der Zellwand gegen die Achse hineinwachsendes Diaphragma chromatischen Plasmas, welches anfangs breit und unscharf, später aber dünn und scharf begrenzt ist; dieses Diaphragma stellt die jüngste, selbständige Grenz wand der Sporenanlage dar, während im übrigen Umfange die Anlage eine mit dem fertilen Pole der Zelle gemeinsame Wand besitzt. Erst später, nachdem sich die Anlage allmählich zur Vorspore vergrößert hat, löst sie sich in ihrem ganzen Umfange von der Zellwand los und erscheint als die mit einer eigenen Grenzschi cht, einem Häutchen ausgestattete, fertige Vorspore.

Ich betrachte demnach die Vorspore als eine im Innern der Mutterzelle entstandene und sich von dieser emanzipierende oder vielmehr die Lebensfähigkeit dieser übernehmende Zelle, in der sich die Spore ausbildet.

Daß die Sporenanlage, bzw. die noch unentwickelte Vorspore gegen den fertilen Pol noch keine eigene Wand besitzt, sondern mit der Wand

1) Zur Zeit der Korrektur hatte ich ganz dieselbe Sporenbildung auch bei einigen anderen, sowohl aëroben wie anaëroben Bakterienarten beobachtet, so beim Bac. des Rauschbrandes.

dieses Pols noch innig zusammenhängt, das beweisen paarweise, auf Art von Diplokokken miteinander zusammenhängende Sporenanlagen, die man besonders in gefärbten Trockenpräparaten aus geeigneten Kulturen oft findet (siehe Fig. 162—166); es sind dies aus einander berührenden Polen entstandene Sporenanlagen, die zwar aus den Zellen frei geworden sind, die aber durch die interpolare Zellwand, weil sie dieser noch innigst anhaften, miteinander verklebt sind.

V. Ueber die Zellmembran des Milzbrandbacillus.

Die Zellmembran des Milzbrandstäbchens erscheint je nach Alter und anderen Umständen unter sehr verschiedenen Bildern; an ganz jungen Zellen, die noch vor kurzem aus der Sporenschale geschlüpft, läßt sie sich kaum erkennen, zweifellos zufolge ihrer Zartheit. Ich konnte es zwar nicht feststellen, muß aber, so wie andere Forscher, annehmen, daß die Zelle noch innerhalb der Sporenschale ein allerfeinstes Häutchen besitzt, das zugleich das jüngste Stadium der Zellmembran des freiwerdenden Keimlings darstellt.

Je älter die Zelle wird, je mehr sie sich dem Stadium der Sporulation nähert, um so deutlicher tritt die Membran hervor und erscheint am deutlichsten an Zellen, deren Inhalt mehr oder minder geschrumpft ist (Fig. 116, 117).

In verdünnter Fuchsin- oder Methylenblaulösung färbt sich die Membran nicht leicht als eine dünne, an älteren Zellen als eine stärkere, dunkle Kontur; Formolfuchsin färbt sie bedeutend kräftiger.

An ungefärbten, frischen Stäbchen¹⁾ erscheint die Membran bei hoher Einstellung als ein heller, glänzender, bei tiefer Einstellung als ein dunkler, ganz homogener Saum; besonders klar tritt sie hervor in gefärbten Präparaten an zerrissenen Zellen, deren Inhalt herausgetreten ist, ferner an Zellen sekundärer Kolonien, deren Membran zuweilen beträchtlich verdickt ist.

In gefärbten Trockenpräparaten färbt sich die normale Membransubstanz weniger leicht, was sich daraus zu erkennen gibt, daß zwischen den einzelnen Gliedern eines Zellenverbandes ungefärbte Querlinien sich befinden.

Die Membran muß als das Erzeugnis der Rindenschicht des Plasmas aufgefaßt werden, wie die Entstehung der Querscheidewände in jungen Zellen lehrt; kleine Vorsprünge der Rindenschicht an der Innenfläche der Membran (Fig. 12, 200) sind die Anlagen der Querwand, sie durchziehen dann den Zellenleib, indem sie zur äußerst feinen Scheidewand werden. Die junge Scheidewand ist anfangs gemeinschaftlich, erst später, nachdem sie sich verdickt und verdichtet hat, differenziert sie sich in zwei je einer Zelle zugehörige Lamellen, die aber miteinander noch mehr oder weniger fest verkittet bleiben. Die Verkittungslinie läßt sich zuweilen zwischen den Querscheidewänden erkennen (Fig. 118, 121). Die variable Festigkeit der Membran, somit auch der Kittsubstanz, erklärt es, daß einmal Hunderte von Zellen zu einer Kette vereint bleiben, während ein anderes Mal nur kurze Verbände und vereinzelt Zellen angetroffen werden.

Außer der soeben geschilderten Beschaffenheit der Zellmembran

1) Häufig bekam ich den Eindruck, als wäre es bloß die innerste Schicht, die sich färbt, während die äußerste ungefärbt bleibt.

die als die normale bezeichnet werden muß, sah ich aber häufig, und zwar bei sämtlichen untersuchten Stämmen, eine mehr oder minder hochgradige Quellung der Membran, ähnlich jener Kapsel, die an Kadavern entnommenen Milzbrandstäbchen zu sehen und von verschiedenen Beobachtern beschrieben worden ist. Ursprünglich war man der Ansicht, daß solche Kapseln ausschließliche Eigenheit der Bacillen aus tierischen Geweben wären, bis ähnliche Formen auch an kultivierten Bacillen beobachtet wurden.

Die Quellung der Membran habe ich stets nur bei einer kleineren Anzahl von Zellen, manchmal nur an einzelnen Stäbchen, beobachten können; sie ist entweder geringfügig oder aber derart ausgesprochen, daß die Membran allein die Breite des Zellinhaltes erreicht oder selbst diese noch bedeutend übertrifft.

Mit der Quellung geht eine chemische Umwandlung, eine Degeneration der Membransubstanz einher, die sich vornehmlich durch starkes Färbungsvermögen zu erkennen gibt; sie läßt sich sowohl an frischen Stäbchen mittels verdünnter Fuchsin- oder Methylenblaulösung, wie an getrocknetem Materiale leicht sichtbar machen, in letzterem Falle besonders gut mit Anilinwassergentiana und nachheriger Entfärbung durch verdünnte Essigsäure (Fig. 119, 120, 193).

Bringt man frische Stäbchen in dünne Farblösung, so erscheint die Quellung minderen Grades in Form ganz dunkel gefärbter, verbreiteter Zellwände (Fig. 8); war die Quellung eine bedeutendere und der Farbstoff nicht sehr verdünnt, so wird die Membransubstanz durch die Farblösung niedergeschlagen und bildet intensiv gefärbte Krümel und Schollen, die der Zelle anhaften oder sie umlagern (Fig. 15). In gut fixierten Präparaten ist die Kapselsubstanz homogen, und in ihren äußeren Schichten zumeist kräftiger gefärbt als nach einwärts (Fig. 120).

Sowohl Methylenblau wie Anilinwassergentiana gibt der Kapsel einen von der Eigenfarbe dieser Stoffe verschiedenen, nämlich einen rötlichen Ton (Fig. 120, 187).

Der Regel nach quellen bloß die äußeren Schichten der Membran, während die innersten ihre normale Beschaffenheit bewahren; der Uebergang von den inneren zu den äußeren Schichten ist ein ganz allmählicher, somit die Intensität der Färbung nach innen abnehmend.

Von dieser Quellung verschieden ist die besonders an sekundären Bacillen oder an säurefesten Schollen nicht seltene Verdickung der Membran verbunden mit starkem Glanze und Unfärbbarkeit derselben (Fig. 122, 157); es handelt sich hier wohl um eine Sklerose der Zellmembran.

An alten, degenerierten und abgestorbenen Zellen kann oft überhaupt keine Zellenhaut gesehen werden (Fig. 123).

VI. Zufällige Bestandteile und Strukturbilder des Milzbrandbacillus.

Auf Grund meiner Untersuchungen muß ich entschieden dafür halten, daß alles andere, was ich in Milzbrandstäbchen gelegentlich noch gesehen habe und was zum Teil auch beschrieben worden ist, nur zufällige Bestandteile dieses Bacillus sind, die unter gewissen, namentlich ungünstigen Verhältnissen oder mit vorgeschrittenem Alter in den Zellen erscheinen, oder aber auch künstlich hervorgebracht worden sind; ich will damit durchaus nicht gesagt haben, daß es in der Struktur des

Milzbrandstäbchens nichts mehr aufzudecken gebe. Offenbar hat man nicht immer darauf geachtet, den Bau der Bakterienzellen nur an jungem, lebenskräftigem Materiale zu studieren, und hat nicht selten Pathologisches oder gar Abgestorbenes für Normales beschrieben.

Ich sehe hier ab von der unendlichen Mannigfaltigkeit der von den normalen abweichenden Zellformen, denen man in verschiedenen Kulturen begegnet, und will bloß einiger häufiger Erscheinungen im Zellplasma selbst gedenken.

Von den zufälligen Zellbestandteilen des Milzbrandstäbchens verdienen die Babes-Ernstschen Körnchen zuerst erwähnt zu werden; es sind Körnchen, die sich mit alkalischem (auch mit wässrigem oder Karbolwasser-)Methylenblau sehr kräftig, schwarzblau färben, durch Erhitzen aber verschwinden (Fig. 188—190).

Ich habe diese Körnchen ihrem Wesen nach nicht näher untersucht, konnte auch nicht ergründen, wovon ihre Entstehung abhängig ist; sie scheint an Zufälligkeiten gebunden zu sein, denn es zeigte sich an Kulturen in verschiedenem Alter während oft wiederholter Prüfungen, daß z. B. Agarkulturen keine Babes-Ernstschen Körnchen besaßen, wogegen Kulturen derselben Stämme auf Kartoffeln und in Bouillon solche aufwiesen; eine aus Sporen gewachsene Agarkultur (des Stammes IV) besaß solche, eine aus dieser Kultur gewonnene zweite Generation auf Agar besaß dagegen keine. In oftmals und zu verschiedenen Zeitpunkten untersuchten Agar- und Kartoffelkulturen zweier Stämme (VI, VII) gelang es mir zu keiner Zeit, solche Körnchen nachzuweisen.

Hieraus erklärt es sich leicht, daß die Körnchen von manchen Beobachtern nicht gefunden, erst von Krompecher gesehen wurden.

Eine weitere, in nicht ganz jungen Kulturen nicht seltene Erscheinung ist eine feine oder gröbere Körnelung des Zellplasmas. Entnimmt man den Stoff 2—3-tägigen Bouillonkulturen und untersucht man ohne Färbung in Bouillon selbst, so fällt es auf, daß manche Ketten ein ganz homogenes, andere aber ein fein (wie bestäubtes) oder grob gekörntes Plasma besitzen; homogene und gekörnte Zellen können auch in ein und derselben Kette vorhanden sein. Untersucht man solches Material in Methylenblau oder Fuchsin oder in sehr stark verdünnter Karbol-fuchsinlösung, so erscheinen die homogenen Zellen gar nicht oder nur kaum gefärbt, die Körnchen der granulierten Zellen hingegen tief gefärbt; der Leib der letzteren Zellen ist durchsetzt von feinen gefärbten Granulis oder aber von Schollen und Bröckchen verschiedener Größe und Gestalt (Fig. 58, 59, 192), die gewiß nicht identisch sind mit den von mir als Kerne der Milzbrandstäbchen zu bezeichnenden, mit dünner Fuchsinlösung leicht färbbaren Gebilden; letztere unterscheiden sich von jenen Schollen durch ihre stets rundliche Gestalt und ihre intensivere Färbbarkeit mit Fuchsin.

In ganz jungen, erst einige Stunden alten Kulturen finden sich bloß Zellen mit homogenem Plasma.

Ich halte die körnige und schollige Form des Plasmas für eine Entartung, und halte es für wahrscheinlich, daß die von Sjöbring und Ružička abgebildeten Körner (Fig. 227, 232, 233) sowie die von Zetnow und Feinberg im Milzbrandbacillus nach Romanowski rot gefärbten groben Schollen (Fig. 234), falls sie nicht überhaupt Kunstprodukte gewesen, durch körnig-schollige Degeneration des Plasmas entstanden waren.

Schon in jungen Kulturen begegnet man in Verbänden normalen

Aussehens einzelnen Zellen, wie man sie in alten Kulturen massenhaft antreffen kann, nämlich Zellen, deren Membran einen fast leeren Schlauch bildet, da das Plasma zu einem kleinen Körper zusammengeschrumpft ist, der sich nicht selten in lebhaft tanzender Bewegung befindet (Fig. 116, 117). Durch Färbung auf Säurefestigkeit kann man sich leicht überzeugen, daß das geschrumpfte Plasma ein säurefestes Körnchen einschließt; außerdem können noch ein oder mehrere oscillierende Knötchen im zweifellos flüssigen Inhalte des Zellschlauhes vorhanden sein; der Membranschlauch kann aber auch gänzlich leer erscheinen.

Es handelt sich hier offenbar um einen plasmolytischen Prozeß, dem aber wahrscheinlich ein Absterben des Plasmas vorangeht, da Zellen mit geschrumpftem Plasma vereinzelt zwischen ganz normalen vorkommen können. In leeren Schläuchen hat wohl eine Auflösung, eine Verflüssigung des Zellinhaltes stattgefunden.

Außerdem habe ich in älteren Kulturen nicht selten eine Quellung des Plasmas gesehen, die darin bestand, daß die Zellen rundlich, ihr Plasma aber wie vakuolisiert, d. h. von hellen Lücken durchzogen erschien; in und zwischen den Lücken können säurefeste und metachromatische Körnchen in verschiedener Anzahl und Gestalt vorhanden sein (Fig. 158, 161, 186).

Die verschiedenen Formen, in denen frei gewordene säurefeste Körper und Vosporen zu erscheinen pflegen, habe ich abgebildet und bereits vorher beschrieben. Auch Körnchen metachromatischer Substanz können freiliegend angetroffen werden.

VII. Zusammenfassende Betrachtungen.

Ich habe nun auf die Erörterung einiger Fragen einzugehen, die sich auf bisherige Ansichten in betreff des feineren Baues der Bakterien beziehen. Es ist mir vorläufig unmöglich gewesen, eingehende morphologische Studien noch an anderen Bakterien zu unternehmen, was ich um so mehr bedauern muß, da ich von solchen Untersuchungen wohl in mancher Hinsicht interessante Ergebnisse zu gewärtigen gehabt hätte. Meine Bemerkungen werden sich demnach hauptsächlich auf den Milzbrandbacillus beziehen, denn ich möchte nicht die feinere Struktur dieses Bakteriums ohne weiteres auch anderen Bakterien zuschreiben, solange unsere positiven Kenntnisse auf diesem Gebiete noch so dürftig sind, obgleich der bei drei verschiedenen Bakterienarten im wesentlichen völlig übereinstimmend befundene Bau und Sporenbildung ähnliche Formverhältnisse auch für andere Bakterien wahrscheinlich machen. Auch dessenungeachtet muß wohl zugegeben werden, daß beim Milzbrandbacillus aufgedeckte Formverhältnisse um so mehr Beachtung beanspruchen, da die verhältnismäßig großen Zellen dieses Bacillus sich zur Erforschung der feineren Struktur gewiß besser eignen als viele andere Bakterien.

Die Fragen, die ich besprechen möchte, sind folgende:

- 1) Besitzt der Milzbrandbacillus einen Kern?
- 2) Was sind die Bungenchen (säurefesten) Körnchen und Kügelchen?
- 3) Inwiefern entspricht die von mir beobachtete Sporenbildung den bisherigen Angaben über Sporenbildung a) beim Milzbrandbacillus, b) bei anderen Bakterien?

A. Ueber den Kern.

Innerhalb der Membran liegt der Zellkörper, an dem ich niemals und bei keinerlei Behandlung eine derartige Differenzierung wahrnahm, die mich dazu veranlassen hätte können, im Zellkörper einen großen „Zentralkörper“ und eine ganz schmale Plasmaschicht (Bütschli Kern und Protoplasma) anzunehmen. Dagegen fand ich die äußerste Schicht, so auch das Zentrum des Zellkörpers bei jungen Zellen oft verdichtet, was sich durch dunklere Färbung, besonders mittels Methylenblau, zu erkennen gibt; eine scharfe Abgrenzung der dunkeln Rand- und Zentralpartie ist nicht vorhanden.

Von den Angaben über kleine, im Zellkörper liegende Kerne verdienen jene von Schottelius und von Nakanishi besondere Beachtung, weil diese Forscher sich schonender Methoden bedienten. Nakanishi meint, der von Schottelius beschriebene Kern sei nicht identisch mit dem von ihm geschilderten, da er letzteren ohne Färbung „in den meisten Fällen“ nicht sehen konnte. Dagegen kann ich angeben, in ungefärbten Milzbrandbacillen die von Schottelius beschriebenen, axial gelegenen Gebilde oft gesehen und mit (auch nach Nakanishi) gefärbten Bacillen verglichen zu haben und zweifle nicht, daß die nach Größe, Gestalt und Lagerung gleichen Kerngebilde von Schottelius und Nakanishi miteinander identisch sind; allerdings halte ich es für höchst wahrscheinlich, daß Schottelius das „Kerngebilde“ in ungefärbtem Zustande erst dann sehen konnte, nachdem darin bereits die stark lichtbrechenden säurefesten Körperchen auftauchten, und ich zweifle nicht, daß die von ihm beschriebene Granulierung, Einschnürung und Teilung auf die säurefesten Körperchen zu beziehen sind, die im Zentralplasma bereits vorhanden waren.

Daß ich bei meinen Untersuchungen (frische Agarkultur in dünne Methylenblaulösung gelegt) die von Nakanishi geschilderten „Kerne“ gesehen, ist unzweifelhaft; sie entsprachen nicht nur seinen Abbildungen, sondern hatten oft auch die von ihm erwähnte rötliche Nuance (Metachromasie).

Diesen Schottelius-Nakanishischen „Kern“ aber kann ich für keinen Zellkern halten, und zwar aus folgenden Gründen.

In ganz jungen Zellen kann zwar die Lagerung, Form, besonders aber die mit der Zellteilung erfolgende Einschnürung und Teilung sehr leicht die Anschauung gerechtfertigt erscheinen lassen, daß dieses Gebilde tatsächlich ein Kern sei; ältere Zellen aber, oder besser gesagt, die meisten Zellen älterer Kulturen (so bereits solche aus 14—15-stündigen Agarkulturen) lassen diesen „kernartigen Körper“ gar nicht mehr erkennen. Nur vereinzelt sieht man in langen Verbänden hier und da eine Zelle von der Beschaffenheit jener jungen Bacillen, nämlich mit dem dunkel gefärbten, „kernartigen“ zentralen Körper, und der gleichfalls dunkeln Rindenschicht, während die Mehrzahl der Zellen, zumeist die mit säurefesten Körperchen und Sporenanlagen, sehr blaß oder fast gar nicht gefärbt sind und statt des „kernartigen“ Gebildes unregelmäßig gestaltete und gelagerte, dunkelblaue Flöckchen oder Streifen, häufig aber gar keine chromatische Substanz enthalten (s. Fig. 67—69, 74, 75). Haben sich in den Zellen schon größere säurefeste Kugeln herangebildet, so liegen sie der Regel nach in der Achse, und ist überhaupt eine chromatische Substanz vorhanden, so liegt diese in regellosen Klümpchen seitlich von den säurefesten Kugeln.

Mit Vorschreitung des Alters büßen also die Zellen die intensive Färbbarkeit ihrer peripherischen Plasmaschicht sowie die Kugel-, Hantel- und Stäbchenform des „kernartigen“ Körpers oder auch letzteren selbst ein; und die den säurefesten Körpern anliegenden blauen Schollen sind wohl nur Reste des ursprünglich axial gelegenen „Kernes“.

Nach meinen Untersuchungen ist also das von Schottelius und Nakanishi als Kern beschriebene Gebilde kein Zellkern, sondern eine in der Achse gelegene und durch stärkere Färbbarkeit ausgezeichnete Plasmapartie, ein Zellorgan, worin die säurefesten Körperchen ihren Ursprung nehmen, welches aber nachher ganz oder bis auf Reste verschwindet.

Diese Annahme deckt sich vollkommen mit jenen Bildern, die man durch Behandlung mit Karbolfuchsin und Schwefelsäure an Trockenpräparaten erhält; man erkennt so bereits in einigen Stunden alten Zellen, noch weit vor Beginn der Sporenanlagen, axial gelagerte, säurefeste, sehr feine Körnchen oder Stäbchen, die um vieles kleiner sind als die „kernartigen“ Gebilde mit Methylenblau lebend gefärbter Bacillen gleichen Alters.

Desgleichen läßt sich mittels Färbung mit Karbolmethylenblau in älteren Bacillen, genau axial gelagert, ein rötlich gefärbtes (metachromatisches) Stäbchen nachweisen, das auch eingeschnürt oder bereits geteilt sein kann (siehe die Abbildungen).

Es ist somit gewiß, daß die in vivo sich mit verdünntem Methylenblau tief färbenden „kernartigen“ Gebilde Plasmazentra sind, die in ihrer Mitte die säurefeste Substanz erzeugen und sie anfangs in sich schließen. Später aber werden die zu größeren Kugeln herangewachsenen säurefesten Körper frei und zugleich zerfällt oder verliert sich das Plasmazentrum.

Auf diese Weise erklärt es sich, wenn Nakanishi sagt: „Der Nachweis des Kernes gelingt bei einem . . . asporogenen Bacillus viel leichter als beim sporogenen, da das Bild beim letzteren durch die Sporenbildung . . . kompliziert wird.“ Ich habe nämlich bereits erwähnt, daß bei frühzeitiger und reger Sporenbildung auch die säurefesten Körper rasch heranwachsen, und hiermit verliert auch das Plasmazentrum (Nakanishis Kern) zumindest seine ursprüngliche Gestalt und Lage oder es verschwindet gänzlich.

Aus meiner Beschreibung der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus geht hervor, daß dieses Plasmazentrum mit der Entstehung der Sporenanlage nichts zu tun hat, daß sich letztere somit nicht auf die von Nakanishi angegebene Weise entwickelt; ich kann somit in der Sporenbildung auch keinen Grund dafür erblicken, daß der Nachweis des Plasmazentrums schwieriger wird.

Ein ähnliches axial gelegenes Plasmastäbchen besitzt auch der Tetanusbacillus (Fig. 79–83), und ich konnte selbes noch fast bis zur Reifung der Spore unverändert nachweisen, weil es, wie ich annehme, nicht infolge Erzeugung von säurefester oder irgend einer anderen Substanz aufgebraucht und zerklüftet wird.

Das Teilungsvermögen allein kann wohl kein stichhaltiges Kriterium der Kernnatur irgend eines Zellbestandteiles abgeben. Ernst hat z. B. bei seinen „sporogenen Körnchen“ auch Teilung beschrieben, und doch werden diese von niemandem für Kerne gehalten. Es ist ja wohl selbstverständlich, daß ein im Vergleich zur ganzen Zelle gewiß nicht kleiner Bestandteil, wie das Plasmazentrum oder z. B. eine Va-

kuole, durch eine Einschnürung des Zelleibes oder durch eine heranwachsende Scheidewand ebenso geteilt werden muß, wie der Plasmakörper der Zelle selbst; ich habe beschrieben, daß auch säurefeste Körper entschieden Teilungsfiguren aufweisen. Eine solche Teilung aber ist gewiß nur als eine passive zu betrachten und muß streng unterschieden werden von jenem aktiven, den echten Zellkernen innewohnenden Teilungsvermögen.

Ich möchte noch einen Grund gegen die Kernnatur des Schottelius-Nakanishischen „Kernes“ anführen.

Ich bin nämlich der bereits auch von anderen Forschern ausgesprochenen und gewiß nicht unberechtigten Ansicht, daß, wenn ein sporogener Bacillus einen Kern besitzt, sodann dieser Kern sich an der Sporenbildung beteiligen müsse. Nun habe ich aber nachweisen können, daß das Plasmazentrum (der sogenannte „Kern“) mit der Sporenbildung nichts gemein hat.

Dagegen muß ich annehmen, daß jene Körnchen, die sich in lebenden jungen Zellen mit verdünnter Fuchsinlösung intensiv färben lassen und zumeist einzeln, aber auch zu mehreren in einer Zelle liegen, die tatsächlichen Kerne des Milzbrandbacillus sind, und stütze diese Anschauung auf folgende Gründe.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut zu Königsberg i. Pr.,
Dir. Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von Dr. med. **Arthur Luerssen.**

Die Angaben R. Pfeiffers über den von ihm 1892 entdeckten *Bacillus influenzae*¹⁾ sind von vielen Forschern bestätigt, von einigen aber teilweise modifiziert worden und dies hauptsächlich von Arnold Cantani jun.²⁾

Cantani gibt an, den Influenzabacillus im Gegensatz zu Pfeiffer auch auf blutfreien Nährböden gezüchtet zu haben und zwar vor allem auf Rindersperma, verschiedenen Serum- und Ascitesnährböden, Cholestearin, Mucin, abnormer Menschengalle und verschiedenen Eiweißkörpern, wie Serumalbumin, Protagon, Globulin, Prot-, Häm- und Dysalbumose, dann aber auch in Mischkultur mit verschiedenen fremden Mikroorganismen in lebendem und totem Zustande ohne Blutzusatz. In den letzteren Versuchen fand er Wachstum des Influenzabacillus bei Mischkultur mit lebenden Gonokokken und Diphtheriebakterien auf Agar, von Gonokokken und Diphtheriebakterien sowie von Staphylokokken, Tuberkulose, Anthrax und verschiedenen anderen auf Ascites- und Blutglycerinagar. Viel üppigeres Wachstum ermöglicht aber die Mischkultur, wenn die fremden Keime abgetötet dem Agar beigemischt waren.

1) Pfeiffer, R., Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Influenza. (Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 28.) — Die Aetiologie der Influenza. (Zeitschr. f. Hygiene. 1893. p. 357.)

2) Cantani, A. jun., Zur Verwendung des Sperma als Nährbodensubstanz. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. p. 601.) — Ueber das Wachstum des Influenzabacillus auf hämoglobinfreien Nährböden. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVI. p. 29.)

Diese Angaben sind so wichtig, daß sie der Nachprüfung dringend bedürfen. Ich wurde daher mit dieser Arbeit von meinem Lehrer, Herr Prof. Dr. Pfeiffer, dem ich hierfür meinen ergebensten Dank ausspreche, beauftragt. Während meiner Untersuchungen erschien jedoch eine Arbeit von Ghon und Preyss, in der unter anderen auch Cantanis Angaben nachgeprüft sind¹⁾. Sie fanden bei der Züchtung des Influenzabacillus auf gewöhnlichem Agar unter Zusatz abgetöteter oder lebender Staphylokokken, Diphtheriebakterien und Gonokokken kein Wachstum. Die positiven Resultate Cantanis mit Gonokokken erklären sie durch wahrscheinliche Uebertragung von Hämoglobin aus dem Serum, auf dem die Gonokokken gezüchtet wurden. Auch auf Sperma, das sie in nur wenig verunreinigtem Zustande „ab vivo per vias naturales“ erhielten, konnten sie nicht, wie Cantani, Wachstum des Influenzabacillus bemerken. Auf eine Nachprüfung der sonstigen Versuche Cantanis mit blutfreien Nährböden, wie z. B. Serum, Ascites, Galle, verzichteten sie mit der Behauptung, daß die wirklich hämoglobinfreie Herstellung derselben technisch unmöglich sei und andererseits Influenza noch wachse, wo Hämoglobin auch spektroskopisch ohne Hydrazinzusatz nicht mehr nachzuweisen sei.

Ehe ich nun über die von mir angestellten Nachuntersuchungen berichte, will ich kurz einige nebenher erhaltene Ergebnisse mitteilen.

Ich arbeitete mit einer Kultur, die von Czaplewski stammte, und züchtete sie auf verschiedenen Blutnährböden stets mit Erfolg.

Die Angabe Czaplewskis²⁾, daß es seinem Assistenten, Dr. Auerbach, gelungen sei, auf nach seiner Methode mit wenig Blut untermischem Agar Influenza im Brutschrank bei 22° zu züchten, fand ich bestätigt. Die Influenzakolonien waren aber erst nach 2—3 Tagen deutlich sichtbar und entwickelten sich nicht so üppig wie sonst. Bei 37° erhielt ich mit diesem Boden üppiges Wachstum, konnte aber keinen Unterschied gegenüber den gewöhnlichen Blutnährböden bemerken. Jedoch fand ich, daß sich der Nährboden von Czaplewski wegen seiner bequemen Herstellungsweise, seiner Durchsichtigkeit und der Verminderung der Blutübertragungsfahr sehr bewährte.

Da ich Hämalbumin zur Hand hatte, versuchte ich auch dieses. Ich löste es in physiologischer Kochsalzlösung, sterilisierte durch Aufkochen und strich es auf schrägerstarrtes Agar oder vermischte es mit Agar, wo es sich in Flocken verteilte. Der rotbraune Farbstoff durchsetzte das Agar gleichmäßig. Influenza kam aber nicht darauf fort.

Um zu sehen, ob das Blut genug Nährstoffe enthält, um für sich allein das Wachstum des Influenzabacillus zu ermöglichen, machte ich Versuche mit Blutagar, dessen Agar ohne Pepton- und Fleischwasserzusatz hergestellt worden war, das also nur aus 4 Proz. Agar, 0,6 Proz. Kochsalz und Wasser bestand. Ich fand aber, daß kein Wachstum erfolgte, weder bei kürzerer noch bei längerer Bebrütung; auch nicht, wenn das Blut sehr dick aufgestrichen und das Hämoglobin so stark diffundiert war, daß der Boden sehr schön rot aussah.

Da das Chlorophyll manche Analogie zum Hämoglobin bietet, so schien ein Versuch mit ihm aussichtsvoll und ich wurde daher damit beauftragt, ihn auszuführen. Von einer chemisch reinen Herstellung

1) Ghon, A. und Preyss, W. v., Studien zur Biologie des Influenzabacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. p. 90.)

2) Czaplewski, Ein Beitrag zur Züchtung des Influenzabacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. p. 667.)

nahm ich der Schwierigkeit und Umständlichkeit derselben und der Labilität der Chlorophylle halber Abstand, ich selte mir nur einen einfachen Auszug aus Blättern her. Ich ließ zerschnittene Blätter von *Syringa vulgaris* eine Nacht bei Zimmertemperatur in 2-proz. Sodaauslösung stehen und erhielt eine sauer reagierende, grünbraune, in dünner Schicht grüne Lösung, die ich durch Sodazusatz schwach alkalisch machte. Einen ähnlichen Extrakt erhielt ich auf gleiche Weise mit 70-proz. Alkohol und machte ihn ebenfalls leicht alkalisch. Mit Agar gemischt oder nach Eindicken auf Agar gestrichen, wurden die Blattgrünlösungen auf gewöhnliche Weise mit Influenza geimpft, aber erfolglos. Auch Staphylokokken kamen darauf nur kümmerlich, oft gar nicht fort. was wohl damit zu erklären ist, daß entwicklungshemmende Stoffe aus den Blättern in die Lösungen übergegangen waren.

Sodann ging ich an die Nachprüfung der Cantanischen Arbeiten. Zu meinen Versuchen mit Hodensaft und Sperma ließ ich mir Hoden und Samenleiter von frischgeschlachteten sprungfähigen Bullen im Zusammenhang mit der Harnblase herausschneiden und verarbeitete sie möglichst aseptisch. Zur Gewinnung des Hodensaftes verfuhr ich nach Cantanis Angaben, kam aber sofort zu der Ueberzeugung, daß auf diese Weise keine Blutfreiheit des Saftes erreicht werden konnte, was ja Cantini auch zugibt. Sofort nach Durchschneiden des Organes sickert das Blut sichtbar aus den Gefäßen, und wenn man auch schnell eine makroskopisch blutfreie Spur entnimmt, so findet man doch unter dem Mikroskop so viele Erythrocyten, daß die Annahme naheliegt, es könnte das Blut der wachstumfördernde Stoff sein.

Das Wachstum des Influenzabacillus auf Hodensaft war stets ein üppiges, meiner Ansicht nach ist aber die Kultur auf Blutnährböden für gewöhnlich als bequemer vorzuziehen.

Nun versuchte ich die Züchtung der Influenza auf Sperma, wie es Cantani durch Herauspressen aus dem durchtrennten Vas deferens gewann. Bei dieser Methode ist die Vermutung, daß etwas Blut beigemischt sein könnte, nicht leicht zurückzuweisen. Ich suchte daher bei meinen Kontrollversuchen eine Blutbeimengung folgendermaßen zu vermeiden: Ich befreite das über den Finger gespannte Gefäß aseptisch von seinem Peritonealgewebe und führte in eines der klaffenden Lumina eines Querschnittes die Spitze eines am unteren Ende zur Kanüle ausgezogenen und oben mit Watte verschlossenen Reagenzgläschens ein. Dadurch wurde es ermöglicht, den Samen ohne Infektion und Blutbeimengung in die Kanüle und das Röhrchen zu pressen. In mikroskopischen Präparaten konnte ich keine Erythrocyten entdecken. Nach Entnahme des Spermas wurde die Kanüle zugeschmolzen und das Material beliebig von der Oeffnung des Reagenzglases aus entnommen. Ich strich das Sperma auf schräg erstarrtes Agar und zwar in verschiedener Menge. Es erfolgte kein Wachstum der darauf geimpften Influenza im Gegensatz zu dem Verhalten auf den gleichzeitig verwandten Hämoglobin-, Blut- und Hodensaftnährböden.

Nur in einer Versuchsreihe fand ich in 2 Röhrchen je eine kleine Kolonie, die sich als Influenzokolonien erwiesen. Bei beiden war bei schwacher Vergrößerung ein kleiner brauner Punkt in der Mitte zu sehen, der sich als Taubenblut entpuppte. Ich mußte annehmen, daß in diesem Falle ein Blutklümpchen mitübertragen und verrieben war, und züchtete seitdem die zur Ueberimpfung benutzte Influenza nur auf

Blutagargemisch. Nach diesen Resultaten kann ich also im Anschluß an Ghon und v. Preyss Cantani nicht bestätigen.

Um den Einfluß der Mischkultur mit lebenden Keimen auf das Wachstum des Influenzabacillus nachzuprüfen, verfuhr ich wie Cantani, benutzte jedoch nur Nähragar. Als fremde Keime gebrauchte ich *Staphylococcus albus*, *aureus* und *Bacillus prodigiosus* und *diphtheritidis*. Kontrollkulturen der Influenza auf Agar und Blutagar wurden stets angelegt. Die Untersuchung erwies sich also sehr schwierig, da die versprengten unentwickelten Kolonien der fremden Keime, z. B. auf zufällig dünneren Stellen der Platte, im Ganzen denen des Influenzabacillus sehr ähneln. Ich konnte nur einige Male auf Platten mit *Staphylococcus albus* und *Prodigiosus* am Rande der fremden Kultur wenige kümmerliche Influenzokolonien feststellen.

Auch bei meinen Versuchen über Mischkultur der Influenza mit abgetöteten Keimen habe ich nach Cantanis Vorschriften gearbeitet, habe die Versuche aber später mehrfach modifizieren müssen. Als fremde Keime nahm ich die schon zu den vorigen Versuchen benutzten und außerdem noch *Vibrio Metschnikoff*, *Bacterium coli commune* und *Bacillus violaceus*. Die Aufschwemmungen dieser Mikroorganismen vermischte ich nach 3-stündiger Sterilisation bei 60° in Petri-Schalen mit verflüssigtem, auf 45—60° abgekühltem Agar und impfte nach dem Erstarren Influenzaaufschwemmung kreuzförmig in breiten Strichen. Außerdem wurden stets Kontrollkulturen auf Agar und Blutagar angelegt.

Mit *Staphylococcus albus* und *aureus* bekam ich in einer ersten Versuchsreihe kein Wachstum von Influenza, nach einer Pause von einem halben Jahre in einer zweiten Versuchsreihe aber deutliches, manchmal kräftiges Wachstum. Auf Diphtherieagarmischung erhielt ich, im Gegensatz zu Cantani, nie Influenzawachstum — ich hatte hierbei zwei üppige Diphtheriekulturen zu jeder Platte verwandt. Es ergaben Mischkulturen mit *Coli* (im Gegensatz zu Cantani), *Prodigiosus*, *Violaceus*, *V. Metschnikoff* (wie bei Cantani) immer üppiges Wachstum des Influenzabacillus.

Die Verschiedenheit der Resultate von Cantani, Ghon und v. Preuss und meinen Versuchen in Bezug auf dieselbe Bakterienart möchte ich mir dadurch erklären, daß ja nicht mit absolut gleichem Material, z. B. mit denselben *Staphylococcus*- und *Coli*-Stämmen, gearbeitet wurde und daß die überaus feinen Vorgänge in den Bakterienkulturen durch geringfügige Unterschiede der Versuchsanordnungen ohne unser Wissen und Willen wesentlich beeinflußt werden können. Der Unterschied zwischen lebender und toter Mischkultur bringt mich wie Cantani dazu, anzunehmen, daß es nicht eine Lebenseigenschaft der Bakterien ist, die das Influenzabacillenwachstum auf ungeeigneten Nährböden ermöglicht, sondern ein Stoff, der aus den Leibern der abgetöteten Bakterien in die Umgebung diffundiert. Um nun die Bedingungen seiner etwaigen Bildung und Einwirkung näher zu ermitteln, modifizierte ich, indem ich hauptsächlich mit *Prodigiosus* arbeitete, die Mischkulturen folgendermaßen.

Bei der Untersuchung, ob die Art der Züchtung einen Einfluß habe, fand ich keinen wesentlichen Unterschied, ob ich nun den *Prodigiosus* bei 22° oder 37°, auf Agar, Kartoffel oder in Bouillon züchtete. Nur bei der Bouillonkultur, von der ich nach Sterilisation je etwa 1 cm zur Agarplatte zusetzte, beobachtete ich, daß junge, einen Tag alte

Kulturen im Gegensatz zu den älteren kein Influenzawachstum ermöglichten, was ich mir damit erkläre, daß der mit dieser jungen *Prodigosus*-Kultur hergestellte Boden nicht so mit Bakterienleibern gesättigt war, da sich der *Prodigosus* in Bouillon langsamer und weniger üppig entwickelte als auf den festen Nährböden.

Das Alter der zur Sterilisation verwandten Kulturen kam im übrigen nicht in Betracht; Aufschwemmungen von bis 10 Tage alten Kulturen ermöglichten ebenso üppiges Influenzawachstum wie frische. Auch die sterilisierte Aufschwemmung gab noch nach 16 Tagen dasselbe Resultat. Ich habe auch die Influenza von *Prodigosus*-Boden zu *Prodigosus*-Boden übergeimpft, ohne eine Veränderung der Kultur zu bemerken. Eine Aufschwemmung, die 20 Stunden bei 60° gestanden hatte, war ebenso brauchbar wie eine nur 3 Stunden lang erhitzte. — Diese Eigenschaften der sterilisierten Mischkultur lassen sie als sehr praktisch zur Zucht erscheinen, man braucht z. B. nur mehrere Tage alte *Prodigosus*-Kultur in Bouillon zu sterilisieren und bei Bedarf eine Probe davon mit Agar zu mischen und dann zu impfen.

Wenn ich statt bei 60° bei 100° sterilisierte, was ich erreichte, wenn ich die Aufschwemmungen der Bakterien 1½ Min. in kochendes Wasser stellte, so erhielt ich für gewöhnlich kein Wachstum, nur einmal ganz spärliches. Ich erzielte auf diese Weise auch mit *Staphylococcus albus* und *aureus*, *Diphtherie*, *Violaceus* und *Metschnikoff* kein Wachstum, jedoch deutliches mit *Coli*. Sterilisierte ich die ganze Kultur durch Umschmelzen, was ich auch mit *Staphylococcus albus* und *aureus* tat, so erhielt ich bei Influenzaimpfung nie Wachstum. Ich nehme hiernach wie *Cantani* an, daß der das Influenzabacillenwachstum fördernde Stoff der fremden Keime durch starke Erhitzung gewöhnlich ungünstig beeinflußt wird.

Ich suchte nun näher zu ergründen, ob der Stoff ein Ausscheidungsprodukt sei oder ein Bestandteil des Bakterienleibes. Daß er kein Stoffwechselprodukt sei, konnte man schon wegen der Verschiedenheit der Begünstigung durch lebende und abgetötete Mischkultur vermuten, doch konnte die in Frage kommende Substanz ja immerhin schon während des Lebens ausgeschieden und erst durch die Erhitzung auf 60° so weit verändert werden, daß sie ihre Wirkung entfalten konnte.

Durch den Geruch der *Prodigosus*-Kolonien nach Trimethylamin wurde ich dazu bewogen, hiermit einen Versuch zu machen. Ich verdünnte ½ g einer Lösung, deren Konzentration ich leider nicht kannte, mit 10 ccm sterilen destillierten Wassers in sterilem Röhrchen und setzte hiervon je ⅓, ½ oder 1 ccm ohne weiteres oder nach Stehenlassen bei 60° während 3 Stunden zu verflüssigtem, abgekühltem Agar. Der Boden war durch den Zusatz stärker alkalisch als sonst, *Staphylokokken* und *Prodigosus* wuchsen auf ihm üppig, Influenza aber nicht.

Um zu ermitteln, ob die Bakterienleiber den wachstumsfördernden Stoff enthielten, wusch ich sie ab, indem ich Aufschwemmungen von *Prodigosus* in steriler Kochsalzlösung sowohl unsterilisiert als auch nach Sterilisation bei 60° zentrifugierte, die klare Kochsalzlösung abnahm, den Bodensatz wieder aufschwemmte, nochmals zentrifugierte und abgoß und nun den aus Bakterienleibern bestehenden Bodensatz zu Mischkultur verwandte, den noch nicht sterilisierten nach Sterilisation bei 60°. Ich erhielt dabei das sonderbare Ergebnis, daß die Bakterienleiber kein Wachstum bewirkten, wenn sie dem Agar aufgestrichen, dagegen üppiges, wenn sie ihm beigemischt waren — und zwar die Proben, die erst nach Sterili-

sation zentrifugiert waren kein so üppiges Wachstum wie die lebend zentrifugierten. Auch wenn ich die *Prodigiosus*-Kulturen auf dem Agar, auf dem sie gewachsen, sterilisierte (bei 60°) und dann Influenza hinzupimpfte, erhielt ich kein Wachstum. Eine Erklärung für den Unterschied zwischen den Ergebnissen mit aufgestrichenen und beigemischten Bakterienkulturen, vermag ich nicht zu geben.

Um die etwaige Wachstum fördernde Kraft der im Nährböden enthaltenen Stoffwechselprodukte der Bakterien zu untersuchen, verfuhr ich folgendermaßen: Ich wusch von Agarkulturen des *Prodigiosus* die Bakterien mit steriler Kochsalzlösung ab, sterilisierte den Boden bei 60° oder durch Umschmelzen und impfte Influenza darauf. Ich erhielt aber nie Wachstum derselben, auch nicht auf analog behandelten Böden von *Viola-ceus*, Diphtherie und *Staphylococcus albus* und *aureus*. In einer anderen Versuchsreihe benützte ich 1 und 4 Tage alte Bouillonkulturen. Ich filtrierte die Bouillon teilweise ohne, teilweise nach Sterilisation bei 60° durch Berkefeld-Kerzen und mischte sie dann wie sonst mit Agar. Einen Teil der abfiltrierten Bouillon benützte ich erst nach 3-stündigem Stehenlassen bei 60°. Die Influenza wuchs nur auf der abfiltrierten Bouillon der 4 Tage alten Kultur, die vor dem Filtrieren auf 60° erhitzt war, und zwar spärlich. Kontrollversuche mit der unfiltrierten sterilisierten Bouillonkultur ergaben kein Wachstum auf der jungen, üppiges auf der alten Kultur.

Durch diese Ergebnisse komme ich zu der Annahme, daß der das Influenzabacillenwachstum fördernde Stoff des *Prodigiosus* in den Bakterienleibern enthalten ist und erst nach ihrem Tode in die Umgebung diffundiert, wenigstens in für das Influenzawachstum genügender Menge. Hierdurch wird auch erklärt, warum bei lebender Mischkultur so selten Wachstum erfolgt.

Da vielleicht ein abnormer Eisengehalt der Bakterien das Wachstum begünstigen konnte, versuchte ich eine Aufschwemmung von 2 *Prodigiosus*-Kulturen, nahm mit Salzsäure auf und setzte Ferrocyankalium zu. Es erfolgte deutlicher Niederschlag von Berliner Blau. Eine Kontrollprobe mit $\frac{1}{2}$ ccm Nähragar fiel aber stärker aus.

Ich prüfte auch, ob der rote Farbstoff des *Prodigiosus* einen Einfluß habe. Mischkulturen mit bei 60° sterilisierten Aufschwemmungen von intensiv farbstoffproduzierendem und von infolge Züchtung bei 37° weißem *Prodigiosus* ergaben gleich üppiges Wachstum der Influenza.

Wegen der Möglichkeit, daß das Albumin der Bakterienleiber, wie *Cantani* annimmt, der fördernde Stoff sei, mischte ich reichliche sterilisierte *Prodigiosus*-Aufschwemmung, von Kartoffel oder Agar, oder sterilisierte Bouillonkultur mit Agar, das nur Wasser, 0,6 Proz. Kochsalz und 3 Proz. Agar enthielt, so daß der Boden stärker als sonst getrübt wurde, erhielt aber kein Wachstum von Influenza darauf.

Weitere Versuche über die Natur dieses das Wachstum des Influenzabacillus fördernden Stoffes anzustellen, muß ich zur Zeit leider aufgeben.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf die Bemerkungen der Herren Albrecht und Ghon zu meiner Notiz: „Zum Streit um den Meningococcus“.

Von Prof. **H. Bonhoff**, Marburg.

In Weichselbaums Parasitologie, p. 132, findet sich über das Wachstum des Meningococcus in Bouillon folgender Passus: „In Fleischbrühe ist das Wachstum spärlich, anfangs kaum eine Trübung der Flüssigkeit und nur ein geringes Sediment sichtbar; nach einigen Tagen wird die Trübung etwas deutlicher, und es bildet sich dann auch ein dünnes Häutchen an der Oberfläche“.

Die Herren Albrecht und Ghon sind also völlig im Recht, wenn sie die Häutchenbildung in Fleischbrühe beim Meningococcus als von Weichselbaum bereits 1898 beschrieben in Anspruch nehmen.

Als Entschuldigung dafür, daß mir dieser Satz völlig entgangen ist, darf ich vielleicht anführen, daß ich in den Originalarbeiten Weichselbaums über den Meningococcus nach einer Notiz, betr. die Kahlhaut, vergeblich gesucht, in dem zusammenfassenden Lehrbuch der Parasitologie aber — natürlich unberechtigterweise — neue Feststellungen über die Biologie des Diplococcus intracellularis nicht vermutet habe.

Marburg, 24. Oktober 1903.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. **F. B. Simon**, Zürich.

(Schluß.)

II. Das Streptokokkentoxin.

Die ferneren Untersuchungen waren nunmehr zunächst darauf gerichtet, zu erfahren, ob im Körper des mit Streptokokken infizierten Tieres ein gelöstes Toxin nachzuweisen sei.

Um ein für diesen Zweck genügendes Flüssigkeitsquantum auf möglichst einfache Weise aus dem Tierkörper zu erhalten, injizierte ich dem Kaninchen vor der Infektion mit Streptokokken mehrere Kubikcentimeter sterilisierter Aleuronataufschwemmung in die rechte Pleura. 24 Stunden später — bei einigen Versuchen schon 6 Stunden nachher — wurde in dieselbe Pleura die tödliche Dosis eines virulenten Streptococcus gespritzt. Das Tier starb meist schon vor Ablauf von 24 Stunden nach der Infektion. Der blutig gefärbte, massenhaft Kokken enthaltende, im Vergleich zu den sterilen Aleuronatexsudaten aber sehr zellenarme Pleuraerguß wurde zur Erleichterung der Filtration mit wechselnden Mengen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Trotzdem war die Filtration manchmal sehr schwierig infolge des starken Hämoglobin-

gehalten der Flüssigkeit. Anfangs benutzte ich kleinere Maaßenfilter, später die von Silberschmidt angegebenen kleinen Filter (Wagner u. Munz, München), die sich gerade für die Filtration schwer passierender Flüssigkeiten vorzüglich eignen. Trotzdem diese Flüssigkeiten weitaus schneller durch den Filter Silberschmidts gehen als z. B. durch einen Maaßenfilter, ist das Filtrat stets absolut keimfrei, wenn man den Filter sorgfältig bedient, d. h. ihn nur tropfenweis mit der Pipette füllt und eine Benetzung des oberen Randes und der Gummikappe vermeidet. Nachdem das Filtrat im Brutschrank auf Sterilität kontrolliert war, wurde es zur Prüfung auf seinen Toxingehalt einem Kaninchen intravenös injiziert.

Es wurden 6 derartige Versuche gemacht, von denen 4 insofern positiv ausfielen, als einer zum Tode des Tieres und 3 zu Erkrankung desselben führten, während bei 2 Versuchen eine Einwirkung des keimfreien Pleuraexsudates des Streptokokkentieres auf das frische Tier nicht wahrzunehmen war.

So erhielt ein Tier von 1500 g 5 ccm filtriertes Pleuraexsudat des Str. B, worauf es 150 g an Gewicht verlor. Ein anderes Kaninchen von 1400 g, welchem 5 ccm Pleurafiltrat von Str. M injiziert wurden, zeigte eine Gewichtsabnahme von 100 g. Ein drittes Tier von 960 g wird mit $4\frac{1}{2}$ ccm filtrierten Pleuraexsudats Str. M gespritzt und stirbt nach 5 Tagen. Der Sektionsbefund bot nichts Besonderes; an der Impfstelle war keine Schwellung, das Herzblut nicht lackfarben; die aus Herzblut und den Organen angelegten Kulturen blieben steril.

Die hier angegebenen Dosen bezeichnen nicht die Gesamtmenge der injizierten Flüssigkeit, sondern beziehen sich — wegen der verschiedenen starken Verdünnung — nur auf das in dieser enthaltene Quantum Exsudat.

Der vierte dieser Versuche verdient besondere Erwähnung, weil er mit dem Pleuraexsudat eines immunisierten Tieres angestellt wurde, um die Frage zu prüfen, ob die Toxinausscheidung der Streptokokken im Körper immunisierter Tiere stärker sei als bei nicht vorbehandelten, wie verschiedene Autoren behauptet haben. Ein gegen die einfache tödliche Dosis des Str. M immunisiertes Kaninchen von 2100 g erhält 6 ccm Aleuronat in die rechte Pleura; 5 Stunden später werden ihm 0,6 ccm eintägiger Bouillonkultur des Str. M gleichfalls intrapleural injiziert. Da es am nächsten Morgen munter erscheint, werden ihm noch 1,2 ccm von derselben Kultur in die Pleura gespritzt und am Abend desselben Tages nochmals 2 ccm. Tags darauf lebt es noch, ist aber krank und wird durch Nackenschlag getötet.

Bei der Sektion fiel sofort auf, daß das Pleuraexsudat nicht blutig war wie bei den an Streptokokkeninfektion gestorbenen Tieren, sondern die hellgelbe Farbe steriler Aleuronatexsudate hatte. Die kulturelle Untersuchung der Pleuraflüssigkeit ergab nun zwar, daß diese nicht steril, aber immerhin sehr arm an Keimen war. Auch das Herzblut enthielt relativ wenig Kokken; eine von demselben angelegte Agarkultur blieb steril, während eine stärker geimpfte Bouillonkultur Wachstum zeigte.

Von dem filtrierten Pleuraexsudat wurden 6 ccm einem Tier von 1450 g intravenös injiziert. Nach 3 Tagen hatte das Tier bis auf 1330 g abgenommen, dann erholte es sich wieder.

Das Pleurafiltrat des immunisierten Kaninchens hatte also eine deutliche Einwirkung auf das damit geimpfte Tier, trotzdem die Anzahl

der Kokken in demselben eine sehr geringe war. Es spräche dieser Versuch demnach in der Tat dafür, daß die Toxinproduktion der Streptokokken im Körper des immunisierten Tieres gesteigert ist. Der Einwand, daß die Einwirkung des Filtrates nicht so sehr einem ausgeschiedenen Toxin als vielmehr den freigewordenen Giften der im immunisierten Tier abgetöteten Kokkenleiber zuzuschreiben sei, dürfte in diesem Fall um so weniger zutreffen, als die früheren Versuche zeigten, daß gerade der Str. M kaum Spuren eines intracellulären Giftes enthält.

Im Anschluß an diese Versuche prüfte ich noch das Herzblut infizierter Tiere auf seinen Toxingehalt. Das Blut des Streptokokkentieres wurde sofort nach der Entnahme defibriniert, dann mit dem zweifachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und filtriert. Von den 3 Tieren, denen solche Blutfiltrate intravenös eingespritzt wurden, blieben 2 gesund und nur eines erkrankte leicht.

Daß diese Untersuchungen des Blutes auf freies Toxin vollständig negativ ausfielen im Gegensatz zu den mit Pleuraexsudat erhaltenen Resultaten, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß das von den Kokken im zirkulierenden Blut ausgeschiedene Toxin fortwährend mit zahlreichen Blutzellen und den Endothelzellen der Gefäße in Berührung kommt und so wahrscheinlich zum allergrößten Teil von diesen sofort gebunden wird, während in dem zellenarmen Pleuraexsudat der infizierten Tiere eine solche Bindung nur in einem geringeren Maße möglich ist. Sollte jedoch noch ein Rest nicht gebundenen Toxins in dem Blut des an Streptokokkeninfektion gestorbenen Tieres vorhanden sein, so wird derselbe vermutlich durch das gerinnende Fibrin mit niedergeschlagen und dadurch der Untersuchung entzogen.

Nachdem die filtrierten Pleuraexsudate namentlich der mit Str. M infizierten Tiere eine mehr oder minder deutliche Giftwirkung gezeigt hatten, lag nun der Gedanke nahe, den Vorgang im Reagenzglas nachzuahmen und so Kulturen herzustellen, die vielleicht ein ähnlich wirkendes Filtrat liefern konnten.

Ich benutzte also als Kulturflüssigkeit für meine diesbezüglichen Versuche das durch Injektion einer sterilisierten Aleuronataufschwemmung erzeugte Pleuraexsudat eines Kaninchens, nachdem es durch Zentrifugieren von den Leukocyten befreit war, darauf noch ein oder mehrere Tage im Eisschrank gestanden hatte und dann von neuem zentrifugiert worden war, um alles Fibrin abzuscheiden. Anfangs wurde die so gewonnene klare, hellgelbe oder bräunliche Flüssigkeit allein und ohne jeden Zusatz zur Anlegung der Kulturen verwendet. Da jedoch das Wachstum der Streptokokken in diesem Nährboden sehr spärlich war, wurden nur 2 Versuche auf diese Weise ausgeführt, später wurde der Exsudatsflüssigkeit noch Bouillon hinzugefügt und zwar fast immer im Verhältnis von 2 zu 1, also auf 2 Teile Exsudat 1 Teil Bouillon; nur in einem Fall war die Mischung 1:1.

Da im Tierkörper die Streptokokken sich in einem sauerstoffarmen Medium befinden, so wurden auch die Exsudatkulturen in Anaerobiose gebracht¹⁾. Es wurde stets das Buchnersche Verfahren angewendet, und zwar in der von Rodella (13) angegebenen Modifikation.

1) Anmerkung: Erst nach Abschluß meiner Untersuchungen ersah ich aus der Arbeit v. Lingelsheims, daß schon Manfredi u. Traversa sowie Roger empfohlen haben, zur Toxingewinnung die Streptokokken unter Sauerstoffabschluß zu züchten. Welche Art der Anaerobiose diese Autoren anwendeten, und welche Nährböden sie benutzten, weiß ich nicht, da die betreffenden Arbeiten mir im Original nicht

5-proz. Kalilauge wurde zum Sieden erhitzt, um den freien Sauerstoff auszutreiben, und dann, sobald dieselbe auf 45° abgekühlt war, so viel davon in einen mit Pyrogallussäure beschickten Glaszylinder gegossen, bis derselbe zu zwei Dritteln gefüllt war. Schon vorher war das mit dem Herzblut eines Streptokokkentieries geimpfte Kulturröhrchen in den Cylinder gebracht worden, so daß derselbe nun rasch mit einem passenden Kautschukpfropf luftdicht verschlossen werden konnte. Das Kulturröhrchen enthielt stets nur soviel Flüssigkeit, daß es leicht genug war, um in der Pyrogallussäurelösung schwimmen zu können.

Zur Kontrolle der Anaërobie wurden wiederholt neben dem Streptokokkenröhrchen in den Pyrogallussäurecylinder kleine, an einem Ende zugeschmolzene Pipetten getan, welche mit Bouillon beschickt waren, in der ein obligater Anaërobe ausgesät worden war. Diese Kontrollkulturen entwickelten sich in allen Fällen gut, so daß also die Bedingungen für ein anaërobes Wachstum auch der Streptokokken gegeben waren. Jedoch wurde der Cylinder mit der anaëroben Streptokokkenkultur zunächst noch auf 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, um zu verhüten, daß die Streptokokken zum Wachstum gelangten, bevor noch der Sauerstoff durch die Pyrogallussäure absorbiert worden war.

Dann erst wurde die Kultur in den Brutschrank gebracht und dort gewöhnlich 5, 6 oder 9 Tage belassen; doch wurden auch 1-tägige Kulturen verwendet. Nachher wurde weiter verfahren wie oben bei den Versuchen mit dem Pleuraexsudat infizierter Tiere, d. h. die Kultur wurde mit 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnt und filtriert. Da hier ebenfalls wechselnde Mengen von Kochsalzlösung zugesetzt wurden, je nachdem die Kultur den Filter leichter oder schwerer passierte, so beziehen sich die angegebenen Dosen auch hier nur auf das in dem injizierten Filtrat enthaltene Quantum Kulturflüssigkeit.

1) Eine im Pyrogallussäurecylinder 9 Tage bei Brutschranktemperatur gehaltene Kultur des Str. B (Herzblut), die in unvermischter Exsudatflüssigkeit (ohne Bouillonzusatz) angelegt wurde, zeigt geringes Wachstum, da auf den mit einem Platindraht geimpften Agarplatten nur einige Hundert Kolonien zu zählen sind. Einem Tier von 800 g werden 5 ccm der filtrierten Kultur subkutan injiziert; es stirbt vor Ablauf von 3 Tagen. Herzblut und Organe sind steril.

2) Eine anaërobe, 9-tägige, mit Str. B (Herzblut) geimpfte Kultur, bestehend aus gleichen Teilen Exsudatflüssigkeit und Bouillon, ist etwas besser gewachsen als die vorhergehende Kultur. Einem Kaninchen von 800 g werden 2 ccm Kulturfiltrat subkutan eingespritzt. Das Tier stirbt nach 11 Tagen; Blut und Organe steril.

3) u. 4) Die Exsudatflüssigkeit eines Kaninchens wird auf 2 Röhrchen verteilt: Röhrchen I erhält Exsudat ohne Zusatz, in Röhrchen II wird zu 2 Teilen Exsudat 1 Teil Bouillon zugefügt. Die Röhrchen werden mit Str. B (Herzblut) geimpft und kommen dann beide zusammen in denselben Pyrogallussäurecylinder. Nach 9-tägigem Aufenthalt im Brutschrank zeigt Röhrchen I ein äußerst kümmerliches Wachstum, die beiden von diesem angelegten Agarplatten weisen nur 43 resp. 11 Kolonien auf. Etwas besser, aber doch noch spärlich entwickelt ist die Kultur im Röhrchen II, auf deren Agarplatten sich 986 resp. 784 Kolo-

zugänglich waren. v. Lingelsheim dagegen gibt an, daß seine Versuche, aus anaëroben Streptokokkenkulturen Toxin zu erhalten, fehlschlagen. Die Anaërobie allein führt allerdings nicht zum Ziel, obwohl sie meines Erachtens eine wesentliche Vorbedingung für die Toxinausscheidung in gewissen Streptokokkenkulturen bildet.

nien finden. Von dem Filtrat des Röhrchens I erhält ein Tier von 730 g $4\frac{1}{2}$ ccm subkutan, das Tier bleibt gesund. Von dem Filtrat des zweiten Röhrchens werden einem Kaninchen von 1450 g 7 ccm injiziert; das Tier stirbt nach 12 Tagen, Blut und Organe steril.

5) Eine anaerobe, aus 2 Teilen Exsudat und 1 Teil Bouillon bestehende Kultur des Str. B wird nur 24 Stunden im Brutschrank gehalten. Die Kultur ist sehr üppig entwickelt, auf den davon angelegten Agarplatten wachsen unzählige Kolonien. Von dem Filtrat werden einem Tier von 1500 g 8 ccm subkutan eingespritzt; das Tier bleibt gesund.

6) Von dem Filtrat einer mäßig gewachsenen, 6-tägigen, anaeroben Kultur des Str. B (2 Exsudat, 1 Bouillon) erhält ein Kaninchen von 1050 g $6\frac{1}{2}$ ccm subkutan. Das Tier stirbt vor Ablauf von 48 Stunden; Blut und Organe steril.

7) Eine 6-tägige anaerobe Exsudatbouillonkultur des Str. B. ist sehr stark gewachsen. Einem Tier von 1200 g werden $9\frac{1}{2}$ ccm Filtrat subkutan injiziert; am folgenden Tage hat das Kaninchen Diarrhöe und hat 100 g abgenommen; es erholt sich aber wieder.

8) Von dem Filtrat einer reichlich entwickelten, 9-tägigen anaeroben Exsudatbouillonkultur Str. B werden 10 ccm einem Kaninchen von 1100 g injiziert. Das Tier bleibt gesund.

9) In ein mit Exsudatbouillon beschicktes Röhrchen wird der zweitvirulente Str. M. (Herzblut) ausgesät und dasselbe in den Pyrogallussäurecylinder gebracht. Die Kultur, welche nur 24 Stunden im Brutschrank bleibt, ist mäßig entwickelt. 5 ccm Filtrat werden einem Kaninchen von 800 g subkutan eingespritzt; das Tier ist vor Ablauf von 48 Stunden tot; Blut und Organe steril.

10) Von dem Filtrat einer 5-tägigen, anaeroben, ebenfalls mit Str. M geimpften Exsudatbouillonkultur, die sehr stark gewachsen ist, erhält ein Kaninchen von 1350 g $7\frac{1}{2}$ ccm subkutan; das Tier hat nach 3 Tagen bis auf 1230 g abgenommen, erholt sich dann wieder.

11) Eine 6-tägige anaerobe Exsudatbouillonkultur von Str. M ist weit schwächer entwickelt als die Kultur im vorhergehenden Versuch. Während dort der Ausstrich einer Oese auf Schrägagar einen diffusen Belag ergab, wachsen hier nur vereinzelte Kolonien. Einem Tier von 1230 g werden $7\frac{1}{2}$ ccm Filtrat subkutan injiziert. Das Tier stirbt nach 13 Tagen, nachdem es bis auf 900 g abgemagert war. Herzblut und Organe sind steril.

Was die Krankheitserscheinungen der mit diesen Filtraten gespritzten Tiere anbelangt, so habe ich niemals an der Impfstelle Infiltrate gesehen, wie v. Lingelsheim und Aronson sie bei der Injektion ihrer Kulturfiltrate beobachteten, obwohl die beiden hier benutzten Streptokokkenstämme, namentlich der Str. M, bei Impfung lebender Kulturen stets sehr starke Schwellungen erzeugen, die sich noch weit in der Umgebung der Injektionsstelle ausbreiten. Ob das Ausbleiben einer Schwellung an der Impfstelle bei meinen Versuchen der Verdünnung der Filtrate mit Kochsalzlösung zuzuschreiben ist oder vielmehr darauf zurückgeführt werden muß, daß die Exsudatflüssigkeit schon an sich vielleicht weniger reizend auf das tierische Gewebe wirkt als die von v. Lingelsheim und Aronson verwendeten Bouillonarten, muß dahingestellt bleiben. Jedenfalls hat also die Einspritzung von Streptokokkentoxin nicht notwendigerweise eine lokale Schwellung zur Folge, und daher darf auch die bei der Infektion der Tiere mit lebenden Streptokokken

auftretende Schwellung nicht als direkte Wirkung des Toxins aufgefaßt werden.

Dagegen ist ein anderes Symptom der Streptokokkeninfektion bei Tieren, nämlich die Diarrhöe, offenbar eine reine Toxinwirkung. Schon v. Lingelsheim beobachtete meist Durchfall bei den Tieren, die er mit seinen Kulturfiltraten gespritzt hatte, und ich sah Diarrhöe bei meinen Versuchstieren zwar nicht immer, aber doch häufig.

Ein zweites Krankheitssymptom der Toxintiere ist die Abmagerung, die namentlich in den Fällen, wo der tödliche Ausgang erst nach 1—2 Wochen erfolgt, hochgradig werden kann (Versuch No. 11).

Die Obduktion der mit Toxin getöteten Tiere ergab keinen positiven Befund, hingegen einen negativen insofern, als niemals lackfarbenes Herzblut gefunden wurde, und auch niemals ein blutig gefärbter Erguß im Perikard oder in den Pleuren zu konstatieren war, während die Infektion der Tiere mit den lebenden Kulturen derselben Stämme meistens, wenn auch nicht immer, blutige Exsudate im Herzbeutel wie in der Brusthöhle hervorrief.

Was übrigens die Hämolyse in vivo anbetrifft, welche nach Marmorek für die Streptokokkeninfektion pathognomonisch sein soll, so habe ich dieselbe bei den Tieren, die mit lebenden Kulturen eines meiner drei virulenten Stämme getötet wurden, nur in einer sehr kleinen Minderzahl der Fälle gesehen. Ich war daher keineswegs erstaunt, daß auch das Herzblut der Toxintiere in keinem Fall lackfarben war.

Auch die mit den Filtraten angestellten Hämolyseversuche im Reagenzglas hatten in der Hauptsache ein negatives Resultat. Da ich anfänglich glaubte, daß nur das zu geringe hämolytische Vermögen der betreffenden Streptokokkenstämme an diesem Ausfall der Versuche schuld sei, suchte ich dasselbe dadurch zu steigern, daß ich den Str. B durch 4 Tiere nacheinander hindurch schickte, ohne ihn inzwischen eine Kultur passieren zu lassen, indem also jedem der 4 Tiere stets direkt das Herzblut des vorhergehenden injiziert wurde. Schon das zweite dieser Tiere hatte bei der Sektion deutlich lackfarbenes Blut, ebenso die beiden folgenden; als aber ein fünftes Tier dann mit einer Bouillonkultur geimpft wurde, in welche das Herzblut des vierten Tieres ausgesät worden war, war bei der Autopsie von einer Hämolyse in vivo nichts mehr zu sehen. Die Passage durch eine einzige Kultur genügte also, um den Streptococcus seiner hämolytischen Eigenschaften wieder zu berauben.

Es muß daher der Satz Marmoreks dahin eingeschränkt werden, daß er lautet: Die Hämolyse in vivo wird bei Tieren beobachtet, welche der Infektion mit dem Blut eines Streptokokkentieres erliegen.

Die Filtrate der anaëroben Exsudatbouillonkulturen, welche mit dem lackfarbenen Herzblut des dritten und vierten Tieres geimpft wurden, wirkten im Reagenzglas ebensowenig hämolytisch wie die Filtrate der früheren Kulturen. Während so der Str. B. in dieser Beziehung gänzlich versagte, gelang es, in einem Falle bei dem Str. M ein Hämolsin zu finden, nämlich in dem Filtrat des Versuches No. 10. In 2 Röhrchen mit je 2 ccm Filtrat, dem ein Tropfen defibrinierten, gewaschenen Kaninchenblutes zugesetzt wurde, war nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank die untere Hälfte der Flüssigkeit purpurrot gefärbt, während 2 Kontrollröhrchen keine Spur von Hämolyse zeigten. Dagegen war das Filtrat der Kultur No. 11, welche mit dem Herzblut

desselben Tieres geimpft worden war, wie die Kultur No. 10, wieder hämolytisch unwirksam.

Es ist auffallend, daß die Filtrate dieser beiden Versuche sich in Bezug auf ihren Toxingehalt gerade umgekehrt verhielten: das hämolytische Filtrat No. 10 führte nur zur Erkrankung des damit geimpften Tieres, das hämolytisch wirkungslose Filtrat No. 11 tötete das Versuchstier. Daraus geht jedenfalls so viel hervor, daß das Hämolytin und das Toxin der Streptokokken zwei verschiedene Körper sind, die keineswegs so eng aneinander gebunden zu sein scheinen, wie das bei den bisher bekannten Toxinen und Hämolytinen anderer Mikroben der Fall ist. Im Gegenteil scheint hier das Auftreten des einen dieser beiden Körper die Entstehung des anderen bis zu einem gewissen Grade auszuschließen. Dafür spricht auch das Fehlen des Hämolytins in den toxisch wirksamen Filtraten des Str. B, und damit stimmt ferner überein, daß die hämolytischen Filtrate Besredkas vollständig ungiftig waren. Es soll weiter unten eine Erklärung dieses merkwürdigen Tatbestandes versucht werden.

In Bezug auf die Giftwirkung der Filtrate ist noch folgendes zu konstatieren.

Von den mit Filtraten anaerober Exsudat- resp. Exsudatbouillonkulturen geimpften Kaninchen starben 6, es erkrankten 2, während 3 gesund blieben. Vergleicht man diese Resultate mit denen, welche bei der Injektion abgetöteter Kokken erhalten wurden — 3 tödliche Ausgänge unter 13 Versuchen — so ist ohne weiteres klar, daß die Wirkung der Streptokokkentoxine eine bedeutend stärkere ist als die der sterilisierten Kokkenleiber. Während dort die Sedimente von 100 ccm Bouillonkultur wiederholt wirkungslos blieben, genügten hier geringe ($2-7\frac{1}{2}$ ccm) Mengen Kulturfiltrat, um die Tiere zu töten.

Ein Vergleich dieser beiden Versuchsreihen zeigt ferner, daß der Str. M., dessen abgetötete Leiber auch in großen Massen fast gänzlich unschädlich für Tiere waren, nichtsdestoweniger ein kräftiges Toxin ausscheidet, dessen Wirkung dem Toxin des Str. B keineswegs nachsteht, trotzdem der letztere 40mal virulenter ist als jener. Es kann also ein Streptococcus ein starkes Toxin bilden, obwohl er kaum Spuren eines intracellulären Giftes besitzt; oder mit anderen Worten: Die Toxinausscheidung der Streptokokken ist unabhängig von dem Gehalt der Kokkenleiber an intracellulären Giften. Demnach kann keinesfalls das in den Filtraten enthaltene Gift etwa durch eine Autolyse aus diesen frei geworden sein, sondern es kann sich hier vielmehr nur um ein abgesondertes Toxin handeln.

Unterzieht man nun die Versuche mit den Filtraten der anaeroben Kulturen allein für sich einer genaueren Analyse, und untersucht man dieselben zunächst auf ihr Wachstum, so findet man, daß von den 11 Kulturen nur 4 stark entwickelt sind (No. 5, 7, 8, 10), von den übrigen 7 jedoch 4 nur ein mäßiges Wachstum zeigen (No. 2, 6, 9, 11), während bei 3 (No. 1, 3, 4) die Entwicklung sogar spärlich ist, am schlechtesten bei No. 3. Da möglicherweise der Sauerstoffmangel die Ursache des ungenügenden Wachstums war, brachte ich zur Kontrolle Röhren mit einfacher Bouillon, in welcher ebenfalls der Str. B ausgesät war, in Anaerobiose. Hier entwickelte er sich jedoch sehr gut; die davon mit einem Platindraht geimpften Agarplatten hatten ca. 100000 Kolonien.

Da auch ein Mangel an Nährstoffen in der eiweißreichen Exsudatbouillon ausgeschlossen ist, und die Reaktion des Nährbodens stets

alkalisch war, so bleibt zur Erklärung des mangelhaften Wachstums nichts weiter übrig, als die Annahme, daß die in der zellfreien Flüssigkeit zentrifugierter Aleuronatexsudate von Buchner u. A. nachgewiesenen bakteriziden Stoffe hemmend auf die Entwicklung der Kokken einwirken. Was insbesondere die Streptokokken anbelangt, so haben bereits Denys und Leclef (14) sowie Bordet (15) beobachtet, daß die zellfreien Exsudatflüssigkeiten eine sehr starke bakterizide Wirkung auf Streptokokken ausübten, während das Kaninchenserum ihnen gegenüber unwirksam war. In einer früheren Arbeit (16) habe auch ich den Einfluß der zentrifugierten Exsudate auf das Wachstum der Streptokokken bei Sauerstoffzutritt untersucht; mit Ausnahme eines einzigen Versuches konnte ich jedoch eine erhebliche hemmende Einwirkung damals nicht konstatieren. Es muß also wohl der Sauerstoffmangel die Wirkung der bakteriziden Stoffe in der Exsudatflüssigkeit verstärken, da die Wachstumshemmung, welche ich bei den hier beschriebenen Versuchen sah, meist viel beträchtlicher war als die, welche ich früher beobachten konnte.

Immerhin sind auch hier unter den 11 anaëroben Exsudatbouillonkulturen 4 zu voller Entwicklung gekommen, woraus hervorgeht, daß die bakterizide Wirkung der Pleuraexsudate des Kaninchens auch in der Anaërobie keineswegs konstant ist. Dieses Ergebnis dürfte aber wohl niemanden in Erstaunen setzen, der längere Zeit mit solchen Exsudaten gearbeitet hat und daher weiß, wie verschiedenartig die Aleuronatexsudate ausfallen, auch wenn stets dasselbe Aleuronat verwendet, die Aufschwemmung auf die gleiche Weise zubereitet wird, und die Tiere stets nach Ablauf der gleichen Zeit getötet werden. Bald bekommt man eine große Menge dünnflüssigen, hellgelben Exsudats mit einem geringen Bodensatz von Leukocyten, bald ein weit geringeres Quantum mehr bräunlich gefärbter dickerer Flüssigkeit, welche dafür aber relativ weit mehr Rundzellen enthält; dazwischen gibt es noch Uebergangsstufen aller Art. Daß all diese Exsudate, die in ihrem Leukocytengehalt so gewaltige Unterschiede bieten, nicht gleichmäßig auf Streptokokken oder andere Mikroben wirken können, ist wohl selbstverständlich. Abgesehen von der verschiedenen Aktivität der Exsudate kommt andererseits aber noch die wechselnde Resistenz der Streptokokken in Betracht, ein Faktor, der mindestens von ebenso großer Bedeutung ist.

Vergleicht man nun das Wachstum der einzelnen Kulturen mit der Giftwirkung ihrer Filtrate, so kommt man zu einem sehr sonderbaren Resultat. Es zeigt sich nämlich, daß von den Filtraten der 4 stark gewachsenen Kulturen (No. 5, 7, 8, 10) kein einziges zum Tode des Versuchstieres führte, obwohl teilweise größere Dosen (8 ccm, 9 $\frac{1}{2}$ ccm, 10 ccm, 7 $\frac{1}{2}$ ccm) eingespritzt wurden als bei den anderen Versuchen. Bei den Versuchen No. 5 und 8 blieben die Tiere, welche 8 ccm resp. 10 ccm erhalten hatten, sogar vollständig gesund.

Dagegen wirkten von den Filtraten der spärlich entwickelten Kulturen (No. 1, 3, 4) zwei in Dosen von 5 ccm und 7 ccm tödlich auf das Versuchstier; nur das Filtrat der ganz schlecht gewachsenen Kultur No. 3 blieb unwirksam.

Die Filtrate der 4 mäßig gewachsenen Kulturen (No. 2, 6, 9, 11) übten sämtlich eine tödliche Wirkung aus und zwar in Dosen von 2 ccm, 6 $\frac{1}{2}$ ccm, 5 ccm und 7 $\frac{1}{2}$ ccm.

Von den anaëroben Exsudatbouillonkulturen liefern also diejenigen,

welche nur mäßig oder gar bloß spärlich entwickelt sind, regelmäßig ein tödlich wirkendes Filtrat — vorausgesetzt natürlich, daß die Anzahl der Keime in der Kultur nicht allzu gering wird wie bei No. 3 — während dagegen die Filtrate stark gewachsener Kulturen höchstens zur Erkrankung des Tieres führen. Die Filtrate mit dem größten und konstantesten Toxingehalt finden wir mithin bei den Kulturen, die eine sichtbare Wachstumshemmung durch die bakteriziden Stoffe des Exsudates erfahren haben, und das toxische Vermögen der Filtrate nimmt rapid ab und kann bis auf Null sinken, wie bei No. 5 und 8, wenn die üppige Entwicklung der Kultur keine Spur einer bakteriziden Einwirkung mehr erkennen läßt.

Unter sonst gleichen Verhältnissen scheiden also die Streptokokken nur dann Toxine aus, wenn sie durch die bakteriziden Säfte des Tierkörpers bis zu einem gewissen Grade in ihrem Wachstum beeinträchtigt werden.

Die Bedingungen für die Toxinbildung der Streptokokken sind daher nur dort gegeben, wo die Vermehrung des Mikroben auf einen merklichen Widerstand seitens bakterizider tierischer Stoffe stößt. Daraus folgt, daß auf der einen Seite die Resistenz der Mikroben gegenüber solchen Schädigungen und auf der anderen die Höhe der vom Tierkörper ausgehenden Wachstumshemmung in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen müssen, wenn es zur Toxinbildung kommen soll. Bleibt die Resistenz des Mikroben die gleiche, werden aber die bakteriziden Widerstände schwächer oder gar gleich Null, wie das auf unseren gewöhnlichen Nährböden der Fall ist, so tritt üppiges Wachstum ein, aber die Toxinbildung bleibt aus. Daraus erklären sich auch die negativen Resultate Aronsons und anderer Autoren, welche Streptokokkenkulturen in möglichst ertragreichen Nährböden anlegten und dann vergeblich in diesen nach einem Toxin suchten.

Dasselbe negative Resultat erhalten wir in den Fällen, wo der Streptococcus zwar den Einflüssen bakterizider tierischer Säfte ausgesetzt ist, seine Resistenz gegen dieselben aber so gesteigert ist, daß sie ihm gegenüber wirkungslos werden. Auch hier kommt es zu reichlicher Entwicklung des Mikroben, jedoch zu keiner Toxinausscheidung. Eine solche Steigerung der Resistenz ist aber bei stärkerer Virulenz der Streptokokken zu finden, wie schon die Untersuchungen Bordets u. A. über die Phagocytose im lebenden Tier gelehrt haben. In der oben erwähnten früheren Arbeit konnte ich zeigen, daß auch im Reagenzglas stark virulente Streptokokken widerstandsfähiger gegenüber den antibakteriellen Körpern der Leukocyten sind als schwach virulente.

Das starke Wachstum der Kulturen und die geringe Giftwirkung ihrer Filtrate in den Versuchen 7 und 8 dürfte zweifellos auf eine erhöhte Resistenz des Str. B zurückzuführen sein, der, wie schon oben bemerkt, vor diesen Versuchen nacheinander durch 4 resp. 5 Tiere geschickt worden war. In Versuch 7, der nach viermaliger Tierpassage angestellt wurde, trat immerhin noch eine deutliche Erkrankung des mit dem Filtrat geimpften Kaninchens ein; in Versuch 8 jedoch, nachdem der Str. B noch das fünfte Tier passiert hatte, blieb das mit dem Filtrat gespritzte Tier vollkommen gesund, obwohl es die große Dosis von 10 ccm erhalten hatte.

Auch die Beobachtungen v. Lingelsheims zeigen das Schwinden der Toxinbildung bei zunehmender Resistenz des Streptococcus. Anfangs injizierte v. Lingelsheim einen sehr abgeschwächten, also wenig resistenten Streptococcus in die Bauchhöhle von Meerschweinchen, setzte ihm also bedeutende wachstumshemmende Widerstände entgegen, welche nur dadurch überwunden werden konnten, daß große Massen des Mikroben eingespritzt wurden. Damit waren also möglichst günstige Bedingungen für die Toxinbildung gegeben, und in der Tat erhielt v. Lingelsheim, nachdem er den Streptococcus auf diese Weise durch 3 Meerschweinchen geschickt hatte, von demselben ziemlich giftig wirkende Filtrate. Die Fähigkeit der Toxinausscheidung erlosch dann aber wieder in dem Maße, als der Streptococcus durch weitere Tierpassagen virulenter und damit resistenter gegen die bakteriziden Kräfte des Peritonealexsudates wurde.

Marmorek, welcher zur Toxingewinnung seinen hochvirulenten Stamm benützt, gleicht die größere Resistenz seines Streptococcus dadurch aus, daß er die bakteriziden Widerstände künstlich erhöht. Er impft denselben in Meerschweinchenserum, welches mit Leukocyten versetzt ist, die von einem gegen seinen Streptococcus passiv immunisierten Tier stammen. Nachdem der Streptococcus 2mal durch ein solches Gemisch gegangen ist, wird er zur Toxinbereitung verwendet.

Der Umstand, daß v. Lingelsheim und Marmorek mit ihren so vorbehandelten Streptokokken aus Bouillonkulturen giftige Filtrate erhielten, spricht übrigens dafür, daß, sobald ein Streptococcus mehreremale nacheinander ein stark bakterizides Milieu passiert hat, er die Fähigkeit der Toxinerzeugung auf die nächstfolgenden Generationen auch dann übertragen kann, wenn diese Tochtergenerationen selbst derartigen wachstumshemmenden Einflüssen nicht mehr unterworfen sind. Die Uebertragbarkeit dieser Eigenschaft unter solchen Verhältnissen dürfte jedoch zeitlich eng begrenzt sein, wie auch schon daraus hervorgeht, daß Marmorek das umständliche Verfahren der Vorbehandlung seines Streptococcus jedesmal vor Anlegung einer toxinliefernden Kultur wiederholt.

Der Streptococcus ist also kein permanenter Toxinbildner wie etwa die Erreger der Diphtherie und des Tetanus, da er dort, wo er nicht auf die starken antibakteriellen Widerstände tierischer Säfte stößt, auch kein Toxin ausscheidet. Die Toxinbildung ist also offenbar für den Streptococcus nur eine Verteidigungswaffe gegen die keimtötenden Produkte der Leukocyten, die Alexine des Blutersums etc. bei der Invasion des Tierkörpers. Dieses Verhalten entspricht vollkommen der Doppelnatur des Mikroben, welcher als harmloser Saprophyt in großer Zahl den menschlichen Organismus bewohnt, bis er zufällig, sei es durch eine Schleimhautläsion oder durch die Lakune einer Tonsille, in das lebende Gewebe hineingerät und damit zugleich der Einwirkung der bakteriziden Körpersäfte sowie der Rundzellen ausgesetzt wird, worauf er seinerseits mit der Toxinausscheidung antwortet. So wird der unschädliche Saprophyt zu einem pathogenen Mikroorganismus.

Es wurde oben bereits darauf hingewiesen, daß das Toxin und das Hämolysin der Streptokokken zwei verschiedene Körper sind, die anscheinend auch unter verschiedenen Bedingungen entstehen. In Versuch No. 10 liefert die Exsudatbouillonkultur des Str. M ein hämolytisch wirksames, aber wenig giftiges Filtrat; in Versuch No. 11 wirkte das Filtrat tödlich, zeigte jedoch keine hämolytischen Eigenschaften mehr.

Die Kulturen waren ungefähr gleich alt (5 resp. 6 Tage) und wurden beide mit dem Herzblut desselben Tieres geimpft. Dagegen war die Kultur No. 10 stark entwickelt, während die Kultur No. 11 nur mäßig gewachsen war. Da beide Male dasselbe Impfmateriale verwendet wurde, so kann die Differenz im Wachstum der beiden Kulturen nur darauf zurückgeführt werden, daß das bei Versuch No. 10 benützte Exsudat weniger stark bakterizid wirkte als das im Versuch No. 11. Daß derartige Unterschiede in der Wachstumshemmung bei den verschiedenen Exsudaten vorkommen, wurde schon oben erwähnt.

Während in dem deutlich bakterizid wirkenden Exsudat No. 11 kein Hämolyisin, aber genügend Toxin gebildet wurde, war umgekehrt in dem Exsudat No. 10, das keine wahrnehmbare Wachstumshemmung zeigte, wohl Hämolyisin, aber wenig Toxin zu finden. Dieser Befund würde also dafür sprechen, daß die Streptokokken nur dort Hämolyisin erzeugen, wo sie **nicht** merklichen antibakteriellen Widerständen ausgesetzt sind. Somit würden die Bedingungen, unter denen das Toxin und das Hämolyisin der Streptokokken entstehen, sich gegenseitig so ziemlich ausschließen.

Jene zwei Versuche genügen allein natürlich nicht, um die Frage endgültig zu entscheiden. Die hier gegebene Auffassung erhält aber eine weitere Stütze durch die Untersuchungen Besredkas, welcher seine ungiftigen, aber stark hämolytischen Filtrate aus Kulturen in Kaninchenserum gewann, dessen Alexine er zuvor durch Erhitzen auf 55° unwirksam gemacht hatte.

Ferner kann zu Gunsten dieser Auffassung noch auf den Befund im Körper des lebenden infizierten Tieres hingewiesen werden. Bei 24-stündiger Krankheitsdauer fand v. Lingelsheim nach 12 Stunden noch keine Streptokokken im Blut. Ich konnte bei 48-stündigem Verlauf allerdings schon nach 24 Stunden Kokken im Blut nachweisen, doch waren sie noch ziemlich spärlich. Die Uberschwemmung des Blutes mit Streptokokken, wie wir sie bei der Sektion beobachten, ist, wie v. Lingelsheim mit Recht bemerkt, das Resultat der allerletzten Lebensstunden. Es sind also dann entweder die bakteriziden Kräfte des Tieres verausgabt, oder die Streptokokken haben im Verlauf der Infektion eine solche Resistenz gegen jene erlangt, daß dieselben ihnen gegenüber wirkungslos geworden sind. Jedenfalls ist nun eine Wachstumshemmung wie in den früheren Stadien der Krankheit nicht mehr zu bemerken. Bis dahin ist aber auch noch kein gelöster Blutfarbstoff nachzuweisen gewesen, obwohl die Streptokokken schon seit mehreren Stunden im Blute kreisen. Erst etwa 1 Stunde vor dem Tode sah v. Lingelsheim deutlichere hämolytische Veränderungen. Also auch hier tritt das Hämolyisin erst dann auf, wenn wahrnehmbare bakterizide Widerstände nicht mehr bestehen.

Diese Spezialfrage bedarf jedenfalls noch genauer experimenteller Prüfung.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind also folgende:

1) In den Leibern der Streptokokken sind intracelluläre Gifte nachweisbar, deren Wirkung jedoch relativ schwach und unbeständig ist, so daß die Krankheitserscheinungen und der rapide tödliche Verlauf der akuten Streptokokkeninfektion unmöglich auf diese Gifte zurückgeführt werden können.

2) Die Giftigkeit der Streptokokkenleiber ist nicht

immer proportional der Virulenz des Streptokokkenstammes.

3) Die Streptokokken scheiden Toxine aus, deren Giftwirkung bedeutend stärker ist als die der intracellulären Gifte.

4) Die Toxinausscheidung der Streptokokken ist unabhängig von dem Gehalt der Kokkenleiber an intracellulären Giften.

5) Die Streptokokken sind **keine permanenten** Toxinbildner wie die Erreger der Diphtherie und des Tetanus, sondern sie bedürfen eines bestimmten äußeren Reizes, nämlich der Einwirkung der bakteriziden Säfte des Tierkörpers, damit die Toxinproduktion bei ihnen ausgelöst wird. Die Bedingungen für die Toxinausscheidung der Streptokokken sind dort gegeben, wo die Vermehrung dieser Mikroben durch die antibakteriellen Substanzen des Tierkörpers bis zu einem gewissen Grade beeinträchtigt wird.

6) Das Toxin und das Hämolysin der Streptokokken sind zwei verschiedene Körper, die offenbar nicht unter den gleichen Bedingungen entstehen. Vielmehr ist es sehr wahrscheinlich, daß die Streptokokken nur dann Hämolysin bilden, wenn sie kein Toxin mehr ausscheiden, d. h. wenn sie die wachstumshemmenden Widerstände des Tierkörpers überwunden haben.

Zürich, im September 1903.

Literatur.

- 1) Manfredi et Traversa, Sull' azione fisiologica e tossica dei prodotti di coltura dello streptococco dell' erisipela. (Giorn. internaz. delle sc. med. 1888. Zitiert nach Lingelsheim.)
- 2) Roger, Contribution à l'étude expérimentale du streptocoque de l'érysipèle. (Rev. de méd. 1892. Zitiert nach Lingelsheim.)
- 3) Marmorek, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. (Annal. de l'Inst. Past. T. IX. 1895.)
- 4) Marmier, Sur la toxine charbonneuse. (Annal. de l'Inst. Past. T. IX. 1895.)
- 5) Schenk, Ueber Streptokokkenserum und über Streptokokkentoxine. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 43.)
- 6) v. Lingelsheim, Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektionen. (Behrings Beitr. z. exper. Therapie. Heft 1. 1899.)
- 7) Besredka, De l'hémolysine streptococcique. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901.)
- 8) Marmorek, La toxine streptococcique. (Annal. de l'Inst. Past. T. XVI. 1902.)
- 9) Aronson, Untersuchungen über Streptokokken und Antistreptokokkenserum. (Berlin. klin. Wochenschr. Bd. XXXIX. 1902.)
- 10) Bonome, Sulle proteine degli streptococchi. (Riforma medica. 1899.)
- 11) Homén, Laitinen u. a., Die Wirkung der Streptokokken und ihrer Toxine auf verschiedene Organe des Körpers. (Zieglers Beitr. z. path. Anat. Bd. XXV. 1899.)
- 12) Radziewsky, Untersuchungen zur Theorie der bakteriellen Infektion. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVII. 1901.)
- 13) Rodella, Bakteriologischer Befund etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- 14) Denys et Leclef, Sur l'immunité du lapin vacciné contre le streptocoque (La Cellule. 1895.)
- 15) Bordet, Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)
- 16) Simon, Ueber die Einwirkung leukocytenhaltiger Flüssigkeiten auf Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.)

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose.

Par

J. Lignières, et G. Spitz,

Directeur

Assistant

de l'Institut National de Bactériologie Buenos Aires.

(Schluß.)

Malgré leur aspect sec, ces colonies se laissent enlever très facilement avec le fil de platine et s'étalent bien sur le porte-objet, contrairement à ce que nous avons vu pour tous les *Streptothrix* du premier groupe.

Cet aspect mamelonné ou cratériforme, blanchâtre et sec des colonies n'est appréciable que dans les cultures obtenues avec l'ensemencement direct du pus et aussi, à un degré plus accentué encore, sur gélose ensemencée avec une culture en bouillon peptone.

Dans ce dernier cas, il se développe un grand nombre de colonies isolées les unes des autres, elles commencent à être distinctes au bout de 48 heures de séjour à l'étuve et ont acquis tout leur développement vers le 3^e ou 6^e jour. A cette époque, on trouve à la surface de la gélose, des colonies de dimensions très variables, d'autant plus grandes qu'elles sont moins nombreuses et moins serrées, mais présentant toutes l'aspect caractéristique que nous avons décrit.

La culture présente à s'y méprendre l'aspect d'une culture de bacilles tuberculeux.

Comme dans celles obtenues par ensemencement direct du pus, les colonies sont peu adhérentes à la gélose malgré leur apparence sèche: elles sont fragiles, se laissent enlever et écraser avec la plus grande facilité.

A partir du 6^e au 7^e jour, l'aspect des cultures sur gélose ne se modifie plus sensiblement; très rarement, et sous l'influence de causes indéterminées, les colonies prennent à la longue une teinte qui peut aller du jaune clair au jaune orangé et même au brun.

Les cultures en série sur gélose aérobie sont difficiles au début; souvent la 2^e culture est très faible et la 3^e nulle. Aussi, est il prudent, avant de tenter ces ensemencements successifs, d'habituer le microbe à pousser sur les milieux artificiels, par une série de cultures sur gélose dans le vide.

Dans les cultures aérobies provenant d'une autre gélose, on n'observe aucun développement dans les 2 premiers jours; le troisième seulement, apparaît une couche blanchâtre très mince formée par la confluence d'un grand nombre de colonies très petites, peu saillantes, ne présentant plus l'aspect caractéristique signalé plus haut; elles sont moins sèches et plus adhérentes à la gélose; néanmoins, elles s'écrasent toujours bien et se laissent facilement diluer dans l'eau. Cette couche n'augmente que très peu les jours suivants et n'offre rien de caractéristique.

Jamais, pas plus que dans les premières cultures, elles ne prennent l'aspect de pellicule desséchée ou ne se couvrent d'une efflorescence comme nous l'avons signalé pour les *Streptothrix* du premier groupe

Gélose de Würtz. La culture y est généralement faible; cependant le milieu vire lentement.

Il commence à rougir vers le 4^e jour; le changement de couleur n'est complet que 5 ou 6 jours plus tard et la teinte bleue ne réapparaît plus.

Sérum solidifié. La culture sur sérum coagulé de cheval ou de bœuf, présente, comme sur gélose aérobie, l'aspect d'une mince couche blanchâtre non caractéristique. Dans les cultures âgées (1 mois), le microbe y montre souvent, à côté de formes courtes, bacillaires, des formes filamenteuses, longues, quelquefois sinueuses ou ondulées comme dans le pus, mais non ramifiées.

Le sérum n'est pas liquéfié.

Pomme de terre. La pomme de terre naturelle, aussi bien que la pomme de terre glycinée, constituent de très mauvais milieux de culture pour notre *Streptothrix*. On n'y observe généralement aucun développement.

Cependant, très rarement, nous avons obtenu par l'ensemencement direct du pus sur pomme de terre ordinaire, non glycinée, une culture faible sous forme de petites colonies blanc grisâtres, hémisphériques, saillantes et molles, apparues vers le 4^e ou 5^e jour et que l'examen microscopique nous a montré constituées par un enchevêtrement de filaments prenant le Gram.

Jamais, d'ailleurs nous n'avons pu réensemencer avec succès ces petites colonies sur une deuxième pomme de terre ordinaire.

Tous les *Streptothrix* du premier groupe trouvent, au contraire, un excellent milieu de culture dans la pomme de terre.

Indol. Dans le bouillon pancréatique, la culture se fait comme en bouillon peptone; il n'y a pas formation d'Indol.

Cultures anaérobies.

Les cultures anaérobies sont plus faciles et plus abondantes qu'en présence de l'air; elles dégagent le plus souvent une odeur qui tient à la fois de l'acide sulfhydrique et de celle de certains fromages.

Les cultures dans le vide se font très bien en séries, même en gélose; mais elles ne présentent pas l'aspect cratériforme qu'on remarque pour les cultures aérobies en agar. Toutes les réactions des différentes cultures aérobies que nous avons enregistrées plus haut, s'observent avec plus d'intensité dans les cultures anaérobies.

Résistance.

Le *Streptothrix* Spitzzi est peu résistant en général, les cultures en gélose anaérobies de 8 à 10 jours ont perdu la faculté d'être réensemencées.

Par contre, les cultures en bouillon sont notablement plus résistantes. La chaleur et les antiseptiques tuent le microbe avec facilité.

Inoculations.

L'inoculation intra-veineuse est restée négative chez tous nos animaux d'expérience.

L'inoculation sous-cutanée chez le bœuf et le mouton avec des cultures récentes ou renouvelées en séries (15^e culture), est toujours positive. Il se forme un abcès dont le pus contient une foule de grains caractéristiques avec filaments dichotomisés et massues rayonnées

généralement petites. On peut donc remarquer que notre microbe révèle sa qualité de *Streptothrix* surtout dans l'organisme.

Le porc, le chien, le lapin, le cobaye, le rat, la souris, la poule et le pigeon présentent après l'inoculation sous-cutanée de cultures, une tuméfaction qui se résorbe sans donner de pus. Chez le cheval il y a formation d'un abcès mais le pus ne laisse voir aucun élément microbien et la culture même reste souvent stérile.

L'inoculation intra-péritonéale de culture chez le cobaye, le rat et la souris ne produit aucune lésion spécifique.

3^{ème} Groupe.

Actinobacille.

Actinophytose à actinobacille (Lignières et Spitz¹).

Dans ce groupe d'actinophytose, nous ne connaissons encore que l'actinobacille²); ce dernier n'appartient pas aux *Streptothrix*.

Les lésions s'observent surtout sous la forme d'abcès et contrairement aux actinophytoses de nos premier et second groupes, les ganglions lymphatiques sont facilement abcédés dans l'actinobacillose. En outre, on peut observer à peu près toutes les localisations signalées pour les actinophytoses à *Streptothrix*.

Le pus montre une quantité de grains généralement très petits muqueux, jamais calcaires, sauf dans les lésions osseuses. Ces grains sont formés d'une partie centrale d'apparence granuleuse et d'une partie périphérique composée de massues rayonnées ayant absolument les mêmes réactions histo-chimiques que celles des autres actinophytoses déjà décrites. En effet, elles retiennent les matières colorantes acides et fortement l'acide picrique. Les massues ont beaucoup plus de tendance à bourgeonner, mais ne présentent jamais de striations, et on ne remarque pas de filament en leur centre après le Gram, pas plus qu'à leur extrémité pointue.

Si on colore au Gram, la partie centrale des grains se décolore et retient à peine l'éosine ou la safranine qui colore davantage et uniformément les massues.

Jamais on ne trouve de filaments dichotomisés comme dans les autres actinophytoses déjà signalées ici.

Et en effet, l'agent microbien producteur des grains est un petit bacille dont nous allons voir maintenant les caractères.

Caractères morphologiques.

L'agent spécifique de l'actinophytose à actinobacille se présente dans les cultures sous l'aspect d'un microbe parfois à peine plus gros que celui du choléra des poules. Dans les premières cultures, il est nettement bacillaire; plus tard, surtout sur gélose, il affecte la forme du cocco-bacille ou de diplocoque; dans les cultures en bouillon-sérum, on observe l'aspect streptobacillaire. Enfin, dans les vieilles cultures, principalement en bouillon additionné de sérum agglutinant, on trouve souvent des formes d'involution les plus bizarres.

Il mesure sous la forme bacillaire environ 1μ 15 à 1μ 25 sur 0μ 4.

1) Voyez la publication spéciale sur cette affection (Bibliographie p. 1).

2) En France Mr. le Professeur Nocard a trouvé aussi plusieurs cas d'actinophytose à actinobacille. (Société Cle. de méd. vétér. 1902.)

Il ne possède pas de mouvements de translation et ne forme pas de spores.

Coloration. L'actinobacille se colore aisément par les différentes couleurs d'aniline, particulièrement par la fuchsine phéniquée et le violet acide; il se décolore par la méthode de Gram.

Il est assez facile de lui faire prendre la coloration bipolaire; son aspect rappelle alors celui qu'on attribuait autrefois aux microbes des septicémies hémorragiques dont il s'éloigne d'ailleurs complètement.

Cultures.

Bouillon simple et peptonisé. Dans le bouillon simple, les cultures sont toujours discrètes. L'addition de 1 à 2 % de peptone favorise le développement du microbe qui pousse sous la forme bacillaire en déterminant un trouble uniforme, ordinairement assez faible dans les premières cultures, plus accentué après plusieurs passages. Dans les vieilles cultures on observe souvent la formation d'un voile léger à la surface du liquide et d'un dépôt pulvérulent assez abondant au fond du tube. La réaction du milieu ne change pas; il n'y a pas dégagement d'odeur spéciale.

Bouillon peptone sérum. Quand on ajoute une petite quantité, de sérum au bouillon peptone, la culture devient très abondante, surtout après un petit nombre de passages dans ce milieu; on y observe très fréquemment, au bout de quelques jours, la formation d'un voile composé presque uniquement d'un enchevêtrement de streptobacilles.

Bouillons sucrés. En bouillon lactosé ou glucosé, la culture se fait bien, en déterminant un trouble uniforme; le milieu prend une réaction nettement acide, plus accusée dans le bouillon glucosé.

L'actinobacille fait donc fermenter les sucres, surtout la glucose; cependant cette fermentation est toujours assez faible.

Eau peptonisée 10%. La culture s'y fait comme dans le bouillon peptone, peut être même moins bien. La réaction du milieu ne change pas.

Thé de foin. Avec des microbes habitués à pousser sur les milieux artificiels et en ensemençant largement, il s'y fait une culture assez bonne; elle est très faible, au contraire, si l'on ensemece avec des bacilles récemment isolés de l'organisme. Pas de changement dans la réaction du milieu.

Lait. Le lait est un bon milieu de culture; il n'est jamais coagulé; il a cependant une réaction nettement acide¹⁾ surtout dans les vieilles cultures qui prennent un aspect jaunâtre rappelant celui des laits alcalins.

Gélatine. Les cultures sur gélatine se font très mal en raison de l'insuffisance de la température. En ensemençant largement en strie, on ne voit aucun développement dans les premiers jours. Après un séjour prolongé à 20°, il ne fait qu'une légère trainée blanchâtre ou bleuâtre visible par transparence.

Dans les tubes de gélatine fondue puis refroidie, après ensemencement avec une goutte de culture en bouillon, il se développe en trois ou quatre jours un grand nombre de petits points blancs, extrêmement

1) D'après les analyses de Mr. le Dr. Laudolphe, le degré d'acidité des cultures d'actinobacille dans le lait, datant de plusieurs jours, serait d'environ 1,7, ce qui est insuffisant pour déterminer la coagulation.

fins, qui n'atteignent jamais, même après plusieurs semaines, le volume d'un grain de sable.

La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Gélose. La gélose est le milieu le plus favorable au développement de l'actinobacille. Avec le pus broyé dans un mortier, on obtient facilement en 24 heures, à la température de l'étuve, le développement de colonies petites, translucides, bleuâtres si elles sont nombreuses, plus grandes et opaques, quand le nombre en est restreint.

Partant de ces colonies, les ensemencements en séries sont faciles, mais les premières cultures sont relativement peu abondantes; elles se présentent généralement sous l'aspect d'une mince pellicule sèche, adhérente à la surface de la gélose, difficile à détacher. Au bout d'un certain nombre de passages, ce caractère disparaît, la culture devient plus abondante, filante, visqueuse, s'enlève et se réensemence facilement.

En strie, le développement se fait à la façon du bacille typhique, quoique moins abondamment; la culture s'étale un peu, les bords en sont épais et restent loin des parois du tube.

Pas plus dans ces cultures que dans aucune autre, il ne se forme d'efflorescence; elles dégagent une légère odeur qui rappelle un peu celle du sperme.

Gélose de Würtz. Elle commence à rougir dans les premières 24 heures; en 48 heures elle est complètement virée, mais, fait intéressant, cette propriété n'appartient qu'aux premières cultures; après un certain nombre d'ensemencements sur gélose ordinaire, le milieu de Würtz ne vire plus.

Sérum solidifié. Ce n'est pas un très bon milieu; la culture y forme une mince pellicule blanchâtre, opaque, beaucoup moins abondante que sur gélose. Le sérum de mouton paraît un peu plus favorable que celui de cheval.

Pomme de terre. Sur la pomme de terre naturelle dont la réaction est toujours un peu acide, il ne se fait pas de culture apparente pas plus que sur pomme de terre glycinée. Par contre, sur la pomme de terre rendue alcaline, le microbe se développe en donnant une couche assez faible, luisante, gris jaunâtre.

Le réensemencement de cette culture sur une pomme de terre naturelle, donne encore un résultat négatif.

L'actinobacille préfère donc de beaucoup les milieux alcalins et redoute les milieux acides.

Indol. Les cultures de 4 à 5 jours en bouillon pancréatique, donnent, par l'azotite de potasse et l'acide sulfurique, la réaction de l'Indol.

Cultures anaérobies.

Les cultures dans le vide en bouillon peptone ordinaire ou additionné d'une petite quantité de sérum, sont presque aussi abondantes qu'en présence de l'air: l'actinobacille est un aérobie facultatif.

Vitalité. Résistance de l'actinobacille.

L'actinobacille est un microbe fragile, il résiste peu à l'action des agents physiques et aux antiseptiques. Il est tué par un chauffage de 1 heure $\frac{1}{2}$ à 52°, de 1 heure à 54°, en 10 minutes à 62°, 1 minute à 100°.

Il ne résiste guère à la dessiccation, surtout si elle a été faite lentement. D'ailleurs, les cultures maintenues à l'étuve à 37° ou même

à la température du laboratoire, perdent facilement la propriété de pousser à nouveau lorsqu'on les réensemence.

Inoculations.

L'actinobacille est un microbe toxique; son inoculation par la voie veineuse détermine chez presque toutes les espèces animales, des troubles plus ou moins graves et parfois la mort, notamment chez le lapin, le chat et le chien.

L'inoculation sous-cutanée détermine fréquemment des abcès chez le chien, le lapin, le cheval, l'âne, le rat blanc, mais on n'y rencontre que le bacille inoculé sans touffes de massues caractéristiques.

Parfois même, chez le porc, le chat, la souris, la tuméfaction du point d'inoculation se résorbe sans s'abcéder.

Chez le lapin, l'inoculation intra-péritonéale fait des nodules remplis de pus dans lesquels on trouve l'actinobacille mais pas de grains de massues.

Par contre, l'injection intra-péritonéale chez le cobaye détermine très facilement des foyers noduleux purulents qui renferment une grande quantité de touffes de massues caractéristiques.

L'injection sous-cutanée chez le mouton et chez le bœuf détermine des abcès qui persistent durant des mois, surtout sur le dernier et dans lesquels on rencontre des touffes de massues caractéristiques et tout à fait identiques à celles de la maladie naturelle.

Nous avons même obtenu chez le bœuf une généralisation de l'affection par des injections sous-cutanées multiples.

Les oiseaux sont réfractaires.

La maladie naturelle s'observe parfois sous forme épizootique, atteignant 15, 20 et jusqu'à 50% des animaux composant un troupeau; c'est là encore un caractère différentiel avec les actinophytoses des premier et deuxième groupes.

* * *

Rien n'est plus difficile que d'introduire des modifications dans les connaissances classiques; or nous nous rendons parfaitement compte que ce que nous proposons, n'est rien moins qu'un véritable bouleversement dans la manière d'envisager les actinomycoses, de les classer et même de les dénommer.

Cependant, nous n'hésiterons pas à soutenir de notre mieux nos propositions parce qu'elles nous paraissent à la fois simples et en parfaite harmonie avec l'exactitude des faits.

Aujourd'hui, il n'y a plus de doute que l'actinomycose regardée comme entité morbide unique ne peut plus être admise, puisqu'un nombre déjà grand de parasites microbiens n'ayant même parfois aucune parenté, peuvent faire des lésions semblables et s'y présenter avec des caractères communs.

Il est devenu absolument nécessaire de faire des groupes basés sur les caractères morphologiques, cultureux et pathogènes des parasites qui déterminent les lésions classées jusqu'ici sous le nom d'actinomycose et de pseudo-actinomycose.

Nous devons souligner que notre classification englobe notamment les *Streptothrix* dont la division en groupes s'impose également, même comme une nécessité matérielle, tellement seraient variées les

espèces si on continuait à se borner aux descriptions individuelles parfois assez incomplètes, des exemplaires rencontrés un peu partout.

Rien ne nous semble plus facile à classer que les *Streptothrix*, tout au moins dans un ordre scientifiquement acceptable et en suivant la voie que nous avons tracée.

On pourra remarquer, en effet qu'en déterminant les caractères spécifiques de notre premier groupe (*Streptothrix actinomyces*), nous avons fait peut être, la besogne la plus ingrate tellement variés étaient les aspects de ces *Streptothrix*.

Il ne s'agit pas, bien entendu, de nier l'existence des *Streptothrix*, isolés jusqu'ici et souvent fort bien décrits; mais seulement d'en faire une étude comparée et systématique, analogue à celle que nous avons faite, afin de les réunir ou de les séparer suivant leurs caractères spécifiques.

Ce travail aura encore le bénéfice de retirer du groupe des *Streptothrix* et des *Actinomyces*, des microbes comme le bacille de la nécrose (improprement *Streptothrix cuniculi*) qui n'appartient pas du tout à ce groupe.

L'importance qui s'attache à la connaissance exacte de la nature des parasites qui déterminent les actinophytoses ou les streptothricoses n'est pas seulement d'ordre purement scientifique; cette connaissance est encore d'un intérêt capital au point de vue de la prophylaxie et du traitement de ces affections.

Nous ne resterons pas toujours impuissants, surtout contre certaines formes d'actinophytose et de streptothricose; à ce moment, il est certain que les moyens d'action vareront avec la nature des parasites spécifiques.

Pour notre part, toutes les fois que l'occasion s'en présentera, nous espérons apporter notre contribution à la classification des actinophytoses comme des streptothricoses.

Si maintenant, on veut connaître notre opinion sur la valeur actuelle des classifications générales des microbes, nous dirons qu'elles ne peuvent avoir rien d'absolu parce que nous ne connaissons encore qu'une quantité relativement infime de ces microbes.

Les efforts qui sont faits, préparent d'une façon fort utile les éléments du problème en même temps qu'ils nous permettent de faire des groupes plus convenables pour les études et parfois d'en tirer des applications pratiques; mais nous devons bien être sûrs que dans un avenir sans doute lointain, une classification générale des microbes, vraiment digne de ce nom et comparable à la classification botanique, modifiera la plus grande partie de nos classifications actuelles.

Pour le moment, nous n'en sommes encore qu'aux classifications transitoires; celles-ci doivent logiquement subir à chaque progrès nouveau, des modifications qui les amèneront peu à peu au degré de perfection dont nous parlions quelques lignes plus haut.

Nachdruck verboten.

Ein neuer tierpathogener Mikrobe — *Bacillus carnis*.

Von E. Klein in London.

Dieser Mikrobe ist ein hochvirulenter obligater Anaërober, der aus fauligem Rindfleischaufluß gezüchtet wurde, und nur unter streng anaëroben Bedingungen wächst.

Morphologie: Schlanke, bewegliche Bacillen, im Mittel 1,5—2,5 μ lang, 0,6 μ breit, mit abgerundeten Enden. Er färbt sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und ist grampositiv. Die Eigenbewegung des Bacillus ist in dem Exsudate der nach der subkutanen Injektion eingegangenen Tiere gut ausgesprochen, ebenso in jungen Kulturen, und verdankt er diese Eigenbewegung dem Vorhandensein peritricher Flagellen. Der Mikrobe bildet ovale stets endständige Sporen, etwas breiter als der Bacillus selbst. Wenn vollkommen ausgebildet, gleichen die Sporen Stäbchen mit abgerundeten Enden und färben sie sich nach der üblichen Methode der Sporenfärbung leicht und gut. Die ausgebildeten Sporen sind bis 2 μ lang, 0,8 μ breit. Auf Nähragar (Bouillon, Pepton, Agar) sind Sporen bereits nach 48 Stunden bei 37° C vorhanden, reichlich bilden sie sich im Kondenswasser der Agar- sowie der Serumkultur, reichlicher in ersterer als in letzterer. Eine Kultur auf gewöhnlichem Nähragar genügt daher, um bei 37° C in wenigen Tagen permanentes Sporenmateriale zu gewinnen. Ebenso leicht und reichlich bilden sich die Sporen, wenn man nach der von mir bereits 1897 (Dieses Centralblatt Bd. XXII. p. 580) bei Gelegenheit des virulenten anaëroben *Bacillus enteritidis sporogenes* beschriebenen Methode das subkutane Exsudat in kapillare Glaspipetten aufsaugt, nach der Füllung die Enden abschmilzt und dann bei 37° C aufbewahrt. In mehreren Tagen (2—5) sind Sporen reichlich vorhanden. Dieselbe Methode wurde dann später auch von Rist (Dieses Centralblatt. Bd. XXX. p. 287) für einen ähnlichen Zweck der Sporenbildung befürwortet.

Biologie. Der *Bacillus carnis* wächst gut in allen Medien bei 37° C, bei Zimmertemperatur bis 21° C langsamer.

Auf mit schräger Oberfläche erstarrtem Blutserum bildet der Mikrobe flache, durchscheinende graue Scheibchen, die nach mehreren Tagen ein etwas dichteres Zentrum, einen unregelmäßig aufgeworfenen Rand und eine dünnere Zwischenzone zeigen. Das Serum wird nicht verflüssigt.

Auf Zuckeragar (2 Proz. Traubenzucker) sind die Kolonien flach, rund bis eckig, ihr Rand unregelmäßig mit kurzen Ausläufern besetzt, auf der Oberfläche der Kolonien dichtere körnige Warzen. Auf gewöhnlichem Nähragar sind die Kolonien flach grau durchscheinend, ihr Rand mehr oder weniger kurze Ausläufer besitzend. Im Agarstich bildet sich eine aus dicht gelagerten körnigen Tröpfchen gebildete Linie, längs der sich nach allen Seiten gebuchtete parallele Säulen von kleinen Kolonien erstrecken. Gas bildet sich im Agarstich in mäßigem Grade, mehr in Zuckeragar als in gewöhnlichem Agar, ebenso bildet sich Gas im Kondenswasser der Oberflächenagarkultur.

In Zuckerbouillon bildet der Mikrobe Gas und wird die Bouillon anfangs gleichmäßig trübe; später klärt sich die Flüssigkeit unter Absetzung eines körnigen bis schleimigen Sedimentes. Dasselbe schleimige

fadenziehende Sediment ist auch im Kondenswasser der älteren Agar- und Serumkulturen vorhanden und enthält dasselbe außer Stäbchen auch Ketten und Fäden.

In Milch wächst der Mikrobe sehr gut bei 37° C, doch bleibt das Aussehen der Milch durch 14 Tage unverändert, obgleich schon in wenigen Tagen die Milch reichlich die Bacillen enthält. In der ungefähr 8—14 Tage alten Milchkultur sind die Sporen am Grunde des Kulturröhrchens reichlich vorhanden. In Zuckergelatine sowie gewöhnlicher Bouillonnährgelatine (Bouillon, Pepton, Gelatine) wächst der Mikrobe bei 20—21° C. Auf der mit schiefer Oberfläche erstarrten Gelatine sind die Kolonien nach 3—5 Tagen als graue durchscheinende, rund bis unregelmäßig gerandete Scheibchen erkennbar, weiterhin flechtenartig kurze Ausläufer aussendend. Im Gelatinestich bildet sich eine aus dicht gelagerten körnigen mehr oder weniger gezackten Tröpfchen gebildete Linie, an vielen Punkten moosartige Büschel verzweigter Fäden ausstrahlend, Gas wird nicht gebildet und zeigt die Gelatine nach vielen Wochen keine Verflüssigung. In der Schüttelgelatinekultur entwickeln sich Kolonien bloß im tiefsten Teile und bemerkt man nach mehreren Tagen bis Wochen verzweigte, an den Enden etwas kolbig verdickte zahlreiche Büschel von Fäden rings von der Kolonie ausstrahlend. Die Kulturen haben keinen Geruch.

Tierexperiment. Meerschweinchen und Mäuse erliegen nach subkutaner Injektion innerhalb 10 Stunden, es muß nur Sorge getragen werden, daß das Infektionsmaterial recht tief in das subkutane Gewebe eingebracht wird. Das Exsudat eines eingegangenen Tieres sowie die Kultur ist in kleinsten Dosen hochvirulent, es genügt von der Kultur ein Tröpfchen — Aufschwemmung der Agar- oder Serumkultur, Kondenswasser, der Milch- oder Zuckerbouillonkultur — um bei subkutaner Injektion bei einem bei halbausgewachsenen Meerschweinchen ein letales Ende mit Sicherheit zu bewirken. Ebenso genügt eine kleine Menge von Sporen, um dasselbe positive Resultat zu erzielen. Die intraperitoneale Injektion von selbst großen Dosen der Kultur — $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ ccm einer sonst virulenten Milchkultur — macht das Tier kaum krank, es bleibt am Leben und erholt sich rasch. In dieser Beziehung verhält sich der *B. carnis* ähnlich wie andere pathogene Anaerobier, die nach intraperitonealer Injektion weniger virulent sind als nach subkutaner.

Meerschweinchen, die mit einer für das Kontrolltier letalen Dosis von Kultur und gleich darauf mit einer 3—4-fachen Dosis derselben Kultur intraperitoneal injiziert werden, sterben mit den für die subkutane Injektion charakteristischen Erscheinungen, aber ausgesprochen später. Während beispielsweise das mit derselben Dosis subkutan injizierte Kontrolltier schon innerhalb 20 Stunden eingeht, stirbt das gleichzeitig subkutan und intraperitoneal injizierte Tier erst am 3. Tage. Durch wiederholte intraperitoneale Injektion läßt sich ein gegen die subkutane Injektion refraktärer Zustand beim Meerschweinchen leicht erzielen.

Mäuse erweisen sich ebenfalls sehr leicht infizierbar durch subkutane Injektion von kleinen Dosen, die Tiere gehen innerhalb 20 Stunden ein und zeigen dieselben postmortalen Erscheinungen wie die Meerschweinchen.

Die postmortalen Erscheinungen der in die Leiste subkutan injizierten Meerschweinchen sind folgende: Das subkutane Gewebe in der Leistengegend, Bauch, Brust und selbst Hals ist sulzig infiltriert, nach

Einschnitt sickert reichlich ein dünnflüssiges, blutig-seröses Exsudat aus, das für das unbewaffnete Auge klar erscheint, doch zeigt es unter dem Mikroskop reichlich schlanke, bewegliche Bacillen von den eingangs angegebenen Dimensionen, Fäden sind keine vorhanden. Schon mehrere Stunden nach dem Tode sind hie und da endständige, sporentragende Bacillen bemerkbar. Das subkutane Gewebe enthält kein Gas und ist das Exsudat ohne Geruch.

Die Dünndärme zeigen in manchen Fällen Hämorrhagieen und ist der Inhalt ein blutig-schleimiger. Die Milz ist in der Regel nicht vergrößert, blaß; in einigen Fällen ist sie etwas vergrößert und zeigt dann Infarkte, dasselbe ist mit der Leber der Fall. In den infarcierten Stellen sind die Bacillen als Einzelstäbchen leicht zu finden. Fäden sind keine vorhanden. Die Bacillen sind auch im Blute des Herzens enthalten, immer nur als Stäbchen und lassen sich mit dem Blute leicht Kulturen erzielen.

Es ist aus den oben beschriebenen morphologischen, kulturellen und tierexperimentellen Beobachtungen klar, daß unser Mikrobe von anderen pathogenen Anaëroben, wie *Bacillus* des malignen Oedems, des Rauschbrandes und *Bacillus* (*enteritidis*) sporogenes verschieden ist. Die ausgesprochene Virulenz allein unterscheidet unseren *Bacillus carnis* von dem nicht pathogenen von Sanfelice (*Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr.* Bd. XIV. p. 268) aus fauligem Fleischaufguß als Anaëroben I (*Bacillus carnicola*) beschriebenen Mikroben.

Nachdruck verboten.

***Bacterium cyprinica* nov. spec.,**

der Erreger der Rotseuche der karpfenartigen Fische.

[Aus der kgl. bayer. biolog. Versuchsstation für Fischerei in München.]

Von Dr. Marianne Plehn.

Mit 1 Tafel.

Das hier beschriebene Bakterium wurde aus den Organen und aus dem Blute von Karpfen und Schleien gewonnen, welche an einer in Winterteichen und Hältern recht häufigen Krankheit leiden, die um des auffälligsten Symptoms willen, das sie setzt, als „Rotseuche“ bezeichnet wird. Es kann nämlich vorkommen, daß die ganze Bauchseite der kranken Fische intensiv rot gefärbt ist; meistens sind wenigstens stellenweise die Hautgefäße, die ja gewöhnlich nicht sichtbar sind, enorm erweitert, so daß rote Flecken von wechselnder Größe sich finden. Sehr ausgesprochen sieht man die Rötung nur bei Schleien und bei schuppenlosen Karpfen; gewöhnliche Schuppenkarpfen können durch und durch infiziert sein, ohne bei äußerer Untersuchung das mindeste davon erkennen zu lassen; offenbar sind bei ihnen die Hautkapillaren spärlicher und weniger erweiterungsfähig. Das einzige Krankheits-symptom ist dann eine auffällige Mattigkeit, die sich gegen das Ende hin immer mehr und mehr steigert. — Der Name „Rotseuche“ ist also nicht in jedem Falle recht charakteristisch; er wurde trotzdem beibehalten, weil er in der Praxis schon vielfach gebraucht wird und weil die Krankheit

kein Symptom bietet, das äußerlich sichtbar und immer vorhanden wäre, aus dem man einen passenderen Namen ableiten könnte.

Die Krankheit ist nicht unheilbar. Bleiben die Tiere in dem infizierten Teich oder Hälter, in dem sie die Krankheit erwarben, so gehen sie zwar im Laufe mehrerer Wochen oder Monate in Massen ein, werden sie aber in bessere hygienische Bedingungen versetzt, erhalten sie reichliches, reines, fließendes Wasser, so können sie sich vollständig wieder erholen. Wir haben in den gut gehaltenen Aquarien der Station deutlich sichtbare Rotfärbung zurückgehen sehen, und auch aus der Praxis ist ein Fall bekannt geworden, wo einer ausgebrochenen Epidemie durch zweckmäßige Maßregeln — Reinigung des Teiches und starke Durchströmung — Einhalt getan werden konnte.

Die pathologisch anatomischen Veränderungen, die sich bei der Sektion zeigen, sind sehr verschieden, sowohl was die Art als auch was den Grad betrifft. Zuweilen läßt sich makroskopisch überhaupt nichts nachweisen. Oft aber findet man die Kiemen angegriffen; sie sind in größeren oder kleineren Bezirken nekrotisch und zeigen häufig hämorrhagische Stellen. Bei recht stark infizierten Fischen findet man fast immer auch die Kapillaren des Darmes erweitert und überfüllt; schon bei makroskopischer Betrachtung ist das oft sehr auffallend; nicht selten ist der Darm auf weite Strecken hin mit Geschwüren bedeckt, die wohl im Anschluß an chronische Darmentzündung sich gebildet haben. Ein sehr häufiger Befund sind auch Veränderungen am Herzen, Verdickung des Perikards und Verwachsung desselben mit dem Herzen, typische Pericarditis.

Alle diese Befunde können natürlich bei verschiedenen Krankheiten vorkommen; die Kiemen nekrotisieren nach mannigfachen Schädlichkeiten; Darmentzündungen treten auf mancherlei Anlässe hin auf, und Pericarditis ist auch bei Fischen bereits bei verschiedenen Bakterieninfektionen beobachtet worden. Den Beweis einer einheitlichen Ursache gab nur die bakteriologische Untersuchung. Das nachfolgend beschriebene Bakterium konnte nämlich bei all den Fischen, die aus infizierten Hältern stammten und die Zeichen von schlechtem Befinden oder gar Rotfärbung erkennen ließen, nachgewiesen werden. In Fällen von vorgeschrittener Erkrankung hatte es den ganzen Körper überschwemmt und konnte ohne weiteres im gefärbten Blutpräparat konstatiert werden; bei leichter Infektion war es am sichersten durch Anlegung einer Kultur aus der Niere zu erhalten; auch in Schnittpräparaten findet man es zuweilen in Mengen, besonders in der Niere, der Milz und im Perikard. Schon auf den Schnitten tritt die charakteristischste Eigenschaft des Bakteriums: seine Neigung, sich mit einer Kapsel zu umgeben, sehr schön deutlich hervor.

Der Nachweis, daß das regelmäßig angetroffene Kapselbakterium wirklich der Erreger der Krankheit ist, wurde durch eine Reihe von Versuchen erbracht.

Zunächst wurden einige Kubikcentimeter einer aufs 10fache verdünnten Bouillonkultur 4 Karpfen und 2 Schleien durch den Mund in den Magen eingefloßt, ein Verfahren, das wegen der eng in einander greifenden Schlundzähne der Cypriniden einige Schwierigkeiten hat. In allen Fällen war bereits am folgenden Tage deutliches Mißbehagen der Patienten zu erkennen, das sich in Unruhe und vermehrter Atemfrequenz kundgab; einige Tage später wurden die Fische matt, ihre Farbe blaßte ab; in einigen Fällen floß blutiger Schleim aus dem After;

die Mehrzahl ging nach 14—15 Tagen ein; eine Schleie und ein Karpfen, bei denen auch die Sektion die beträchtlichsten Veränderungen zeigte, starben schon nach 5, resp. 7 Tagen; der Tod trat ganz allmählich ein, ohne Zuckungen oder Krampferscheinungen. In sämtlichen Fällen war Darmentzündung zu konstatieren, die sich schon makroskopisch an der auffallenden Rötung der Schleimhaut zeigte, in 2 Fällen war es zur Bildung zahlreicher kleiner Geschwüre gekommen. Die Bakterien fanden sich nur in sehr geringer Anzahl im Darmepithel, oft dagegen massenhaft in der Submucosa; dieselbe war sehr stark blutig infiltriert; es hatte eine kolossale Leukocyteneinwanderung stattgefunden, vor allem in der Umgebung der kleinen Geschwüre. Das Epithel zeigte sich häufig, auch wo es guterhalten war, auf weitere Strecken hin abgehoben. Massenhafter aber als in der Darmwand fanden sich in allen diesen Fällen die eingefößten Kapselbakterien im Peritoneum, das ganz von ihnen überschwemmt war und sich im Zustande hochgradiger Entzündung befand. In einem Falle war die ganze Leibeshöhle von Eiter erfüllt; beim Aufschneiden der Bauchwand sah man denselben als dicken weißen Schleim die Eingeweide umgeben, der sich ebenso wie eine Reinkultur des *B. c.* in Milch zu langen Fäden ausziehen ließ. Offenbar siedelt sich das Bakterium mit Vorliebe auf den serösen Häuten an. Einmal war es infolge der starken Peritonitis zu größeren Blutungen zwischen Schwimmblase und Peritoneum gekommen. Pericarditis im Anschluß an die Infektion vom Darmtraktus aus wurde zweimal beobachtet. Bei einem Karpfen hatten die Bakterien in der Schwimmblase ihren Hauptsitz genommen und an ihrer inneren Wand einen Belag, der die schönste, schleimige, fadenziehende Reinkultur darstellte, gebildet. Vermutlich beförderte — ihrer aeroben Natur zufolge — der Luftgehalt der Schwimmblase besonders das Wachstum. Die Wand des Organs war auf mehr als das Doppelte verdickt, die mittlere, bindegewebige Schicht ganz von Leukocyten durchsetzt. Zunächst vermutete ich, die Injektionsflüssigkeit könnte vom Oesophagus aus direkt durch den Ductus pneumaticus in die Schwimmblase gelangt sein; dieser Annahme steht aber die Enge des Ganges im Wege; sie erwies sich vollends als unhaltbar, als es sich zeigte, daß die hintere Schwimmblase, in welche der Ductus bekanntlich mündet, viel schwächer infiziert war als die vordere, die nicht direkt mit ihm kommuniziert. Die Bakterien müssen also auf dem Blutwege eingeschleppt worden sein.

Das Blut erwies sich in allen Fällen stark bakterienhaltig; es wurde für die Probekulturen stets aus der Schwanzarterie genommen, weil es sich da am sichersten rein und unvermischt mit anderen Gewebssäften erhalten läßt.

Bei der zweiten Versuchsserie wurden 6 Karpfen verwendet, die eine intraperitoneale Injektion von 0,2—0,3 ccm einer etwa 4-tägigen Bouillonkultur erhielten. Bei allen traten am folgenden Tage schon Zeichen von Krankheit auf; sie erlagen nach 7 bis höchstens 14 Tagen der Infektion, deren Hauptsymptom in allen diesen Fällen Vereiterung der Leibeshöhle war; der Eingeweidekomplex sah aus, als wäre er mit dickem Rahm übergossen. Darmentzündung mit blutig-schleimigem Ausfluß aus dem After trat zweimal auf. Die Milz und besonders die Niere führten reichlich Bakterien, ebenso das zirkulierende Blut. In den Gefäßen der Leber fanden sie sich sowohl frei als auch in weißen Blutzellen eingeschlossen, außerdem in der Wand der Kapillaren und in der nächsten Umgebung der Gefäße. Die Leberzellen

selbst bleiben ausnahmslos frei, ebenso in der Niere die Epithelien der Harnkanälchen. Dieselben liegen beim Fisch eingebettet in ein gefäßreiches, lymphoides Gewebe, in dem die Blutbildung vor sich geht; die Zellen dieses Gewebes enthalten kolossale Mengen von Bakterien. Näheres hierüber, sowie über einige andere Details des mikroskopischen Befundes werde ich in anderem Zusammenhang berichten.

Niemals kam es zur Bildung eines Abscesses an der Injektionsstelle; zuweilen war die Haut in der Umgebung des Stiches stellenweise etwas blasser gefärbt; vom Stich blieb nach wenigen Tagen nichts mehr zu sehen. Ähnlich verhielt es sich bei den intramuskulären Injektionen, die als dritte Versuchsreihe ausgeführt wurden. Eine Schleie und zwei Karpfen dienten dazu. Der eine der Karpfen verendete nach 7 Tagen; die Sektion zeigte nichts Abnormes, das Blut dagegen wimmelte von Bakterien; der Fisch war offenbar einer Allgemeinfektion erlegen, ebenso eine andere Schleie, die erst nach 3 Wochen einging. Der zweite Karpfen, dessen Krankheit 9 Tage dauerte, zeigte Entzündung des Darmes und des Peritoneums. Die Muskulatur war in der Umgebung des Impfstiches blutig-eiterig infiltriert und voller Bakterien; keinerlei Schwellung hatte stattgefunden, äußerlich war der Stich nicht sichtbar.

Auf welchem Wege also auch das Bakterium dem Körper zugeführt wurde, das Resultat war im großen und ganzen immer das gleiche: es wurde in alle Organe verschleppt, rief an verschiedenen Stellen Entzündungen hervor, vermehrte sich kolossal, so daß in allen Fällen die Infektion den Tod zur Folge hatte.

Wenn auch der ursächliche Zusammenhang des charakteristischen Kapselbakteriums mit der epidemisch auftretenden Krankheit wohl genügend erwiesen ist durch das positive Ergebnis sämtlicher 15 Infektionsversuche, so bleibt es doch bedauerlich, daß es kein einziges Mal gelang, die Rotfärbung, der die Krankheit den Namen verdankt, in recht unzweifelhafter Weise hervorzurufen. Hämorrhagische Flecken in der Haut wurden oft beobachtet, aber von einer ausgedehnteren, gleichmäßigen Verfärbung war nie die Rede. Mir scheint dies negative Resultat freilich nicht so sehr schwerwiegend zu sein. Die natürliche Erkrankung verläuft sehr langsam, sie kann Monate dauern, und die Bakterien entwickeln sich nicht so massenhaft wie bei der akuten, durch künstliche Infektion hervorgerufenen Krankheit. Es wird des chronischen Einflusses der Schädigung bedürfen, um die Gefäße so zu alterieren, daß die allgemeine Rotfärbung zu stande kommt, bei stürmischem Krankheitsverlauf hat sie nicht Zeit, sich zu entwickeln.

Höchstwahrscheinlich ist im Freien der Darmtraktus die Eingangspforte für das Bakterium. Ist diese Annahme schon von vornherein näherliegend als die einer Infektion von äußeren Verletzungen aus, so gewinnt sie noch an Wahrscheinlichkeit durch die Ergebnisse einer weiteren Versuchsserie, welche Salmoniden zum Gegenstand hatte. Infektion mit dem *Bact. cypr.* war bei Salmoniden nie beobachtet worden; es war interessant, festzustellen, ob es in ihnen überhaupt nicht gedeihen könne oder ob es nur für sie nicht pathogen sei. Das Ergebnis der Versuche ist bemerkenswert.

Eine Forelle erhielt eine intramuskuläre Injektion; sie ging nach 5 Tagen bereits zu Grunde; das Blut war überaus reich an Bakterien. Die Sektion zeigte nichts als einen Thrombus von geronnenem Blut im Bulbus arteriosus; zur Entwicklung weiterer Symptome war

es nicht gekommen. Zwei Forellen wurden intraperitoneal geimpft: auch sie gingen nach 7 resp. 15 Tagen ein; geringgradige Peritonitis ließ sich in beiden Fällen feststellen und Ueberschwemmung des Blutes mit Bakterien. Das Bakterium ist also schon durch diese Injektionsversuche als höchst pathogen auch für andere Fische als Cypriniden erwiesen.

Wichtiger und interessanter aber waren die Versuche, bei welchen einige Kubikcentimeter stark verdünnter Kultur den Forellen in den Magen geißt wurden. Es wurde ein ganz gesunder, frischer Fisch dazu benutzt und zwei etwas matte, die kurz vorher eine Magen- und Darmkrankheit durchgemacht hatten und noch an Appetitmangel litten. Der erstere Fisch war wohl einige Tage lang unruhig, er atmete rasch und fühlte sich offenbar nicht wohl; nach etwa 5 Tagen aber verhielt er sich völlig normal und fraß mit Gier. Er wurde nach 2 Wochen getötet, erwies sich als ganz gesund, und die Kulturen, die aus seinem Blute angelegt wurden, blieben steril. Der Magensaft der gesunden Forelle tötet also die Bakterien; eine Infektion durch die aufgenommene Nahrung wird bei Forellen normalerweise erfolglos sein.

Wir sehen hier einen bedeutsamen Unterschied im Verhalten des gesunden saueren Magensaftes des fleischfressenden Salmoniden und des Magensaftes beim omnivoren Karpfen. Beim magenkranken Salmoniden gestaltet sich die Sache anders. Die beiden leidenden Forellen gingen 10 resp. 14 Tage nach der Infektion ein; bei beiden waren die Bakterien überall im Blute nachweisbar; bei einer derselben auch auf Schnitten in allen Organen, besonders in der Schwimmblase, in solchen Mengen vorhanden, wie ich sie bei Cypriniden nie gefunden habe.

Wenn die Infektion in der Natur durch Wunden erfolgte, so müßten auch Salmoniden öfters erkranken, da sie sich ja in so hohem Grade empfänglich verhalten; findet sie durch die Nahrung statt, so ist es begreiflich, daß nur Cypriniden oder kranke Salmoniden ihr anheimfallen, deren Magensaft die Bakterien nicht zu töten vermag. Magenkranken Salmoniden fressen nicht, sind also einer Infektion durch die Nahrung nicht ausgesetzt, und gesunde überwinden leicht selbst eine starke Infektion, wenn dieselbe den Verdauungstraktus zur Eingangsporte hat.

Unser Bakterium ist dadurch von allgemeinerem Interesse, daß es die Fähigkeit, eine Kapsel zu bilden und Schleim zu produzieren, auch auf künstlichen Nährböden verschiedener Art, selbst nach monatelang wiederholten vielfachen Umzüchtungen, beibehält. Am leichtesten darstellbar sind allerdings die Kapseln auch hier im Blut oder den Organsäften, da färben sie sich aufs schönste nach allen Methoden. Die einfachste und schönste Färbung liefert das Karbolthionin, in welchem die Bakterien blauviolett, die Kapseln rötlich werden. Fig. 1 stellt ein Ausstrichpräparat vom blutigen Eiter der Leibeshöhle eines intraperitoneal geimpften Karpfens dar. Es wurde mit Alkohol fixiert und 5 Minuten in Karbolthionin gefärbt. Die Leukocyten bleiben blaß, rotviolett, die Erythrocyten erhalten einen grünlichen Ton des Zelleibes und einen tiefblauen Kern. Das Präparat zeigt auch bakterienbeladene Leukocyten und einige Eiterzellen. Das Photogramm Fig. 2 zeigt die kapselführenden Bakterien aus einer frischen Agarkultur. Einige sind scharf gefärbt, bei ihnen erscheint die Kapsel nur als zarter Saum, bei den anderen ist etwas chromatische Substanz aus dem Bakterium in die Kapsel diffundiert, dieselbe ist dunkler gefärbt, das Bakterium selbst

etwas blasser. Die Kapseln werden mit der Zahl der Umzüchtungen immer hinfalliger; während sie anfangs eine kurzdauernde Aufschwemmung und Verteilung in Wasser ganz gut vertragen, lösen sie sich später in Wasser momentan. Sie sind leicht im frischen ungefärbten Präparat zu sehen. Die Länge der in Fig. 2 abgebildeten Bakterien beträgt ca. 1μ , die Breite $0,8 \mu$; die Größe schwankt, wie die Figuren zeigen, beträchtlich. Schon in frischen Kulturen auf manchen Nährböden, ferner auf allen verarmenden Nährböden werden keine Kapseln gebildet (Fig. 3); die Bakterien werden dann lang und dünn, es entwickeln sich Scheinfäden, wie das Photogramm Fig. 3 zeigt. Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Im hängenden Tropfen zeigt sich keine Eigenbewegung; Geißeln sind nicht vorhanden. Alle Farbstoffe werden rasch aufgenommen; nach Gram tritt Entfärbung ein. Die Altersformen färben sich langsam und wenig intensiv.

Das Bakterium ist aerob; in einer durch alkalische Pyrogallussäure sauerstofffrei gemachten Atmosphäre findet keine Spur von Wachstum statt.

Die günstigste Temperatur ist $10-20^{\circ}$; darunter ist das Wachstum sehr langsam, darüber hört es bald auf. Bei 37° findet gar kein Wachstum statt, weder auf Agar noch in Bouillon, doch wirkt diese Temperatur auch nach mehreren Tagen nicht tödlich. Immerhin ist als sicher anzunehmen, daß das Bakterium im Warmblüterkörper nicht gedeiht, Versuche darüber wurden noch nicht angestellt. Eine Temperatur von 50° tötet die Bakterien innerhalb 10 Minuten.

Auf der Gelatineplatte werden die oberflächlichen Kolonien nach 24 Stunden mit bloßem Auge sichtbar, die tiefer liegenden brauchen dazu mehrere Tage und wachsen überhaupt sehr langsam, bis sie zur Oberfläche vorgedrungen sind. Dann beginnen auch sie raschere Entwicklung; sie erheben sich über die Oberfläche und werden auf dünn besäten Platten zu feucht-glänzenden weißen Halbkugeln von etwa 2 mm Durchmesser und milchglasartigem Aussehen. Verflüssigung findet nicht statt. In der Umgebung der Kolonie tritt nach etwa 3 Tagen leichte Fluoreszenz auf, die einige Tage später zu deutlicher Grünfärbung der ganzen Gelatine führt. Die einzelne Kolonie ist so fest zusammengeklebt, daß man sie mit der Platinöse nur im ganzen von der Platte heben kann. Klatschpräparate kann man nicht herstellen, da die ganze halbkugelige Kolonie am Gläschen hängen bleibt, wenn überhaupt etwas daran haftet.

Die Gelatinestichkultur im Röhrchen zeigt nagelförmiges Wachstum (Fig. 4); es ist an der Oberfläche lebhaft, in der Tiefe äußerst spärlich. Zuerst erhebt sich eine weiß-glänzende Kuppe, von der aus die ganze Oberfläche sich überziehen kann. Die Fluoreszenz tritt nach 3 Tagen etwa hervor; sie ist von der Menge des Sauerstoffes und der Wachstumsintensität abhängig; während sie in den oberen Schichten bald lebhaft wird, bleibt sie in den tieferen vollständig aus.

Auf Gelatine, die nicht neutralisiert wurde, die also leicht sauer reagierte, wächst das B. c. auch, aber nur spärlich; es treten von vornherein die langen, dünnen Altersformen auf; Kapseln werden nicht gebildet.

Auf Agar ist das Wachstum recht gut; die schräg erstarrte Fläche überzieht sich mit weiß-glänzendem Belag. Auf Gelatine sowohl wie auf Agar findet Schleimbildung statt. Wenn man mit etwas Kondenswasser an der Oese die Kolonie anrührt und heraushebt, so ziehen sich Fäden von mehreren Millimetern bis zu einigen Centimetern Länge aus.

Fig. 2.

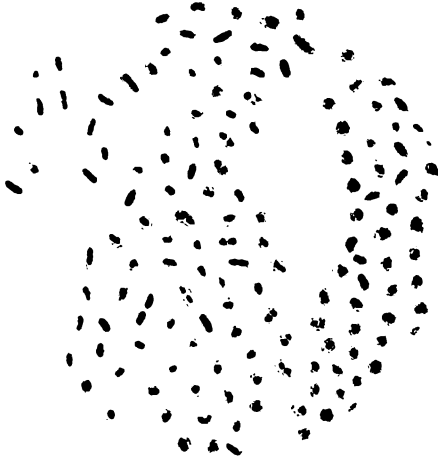


Fig. 3.

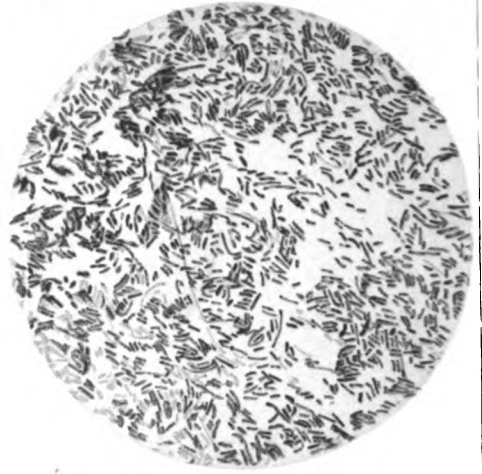


Fig. 1.

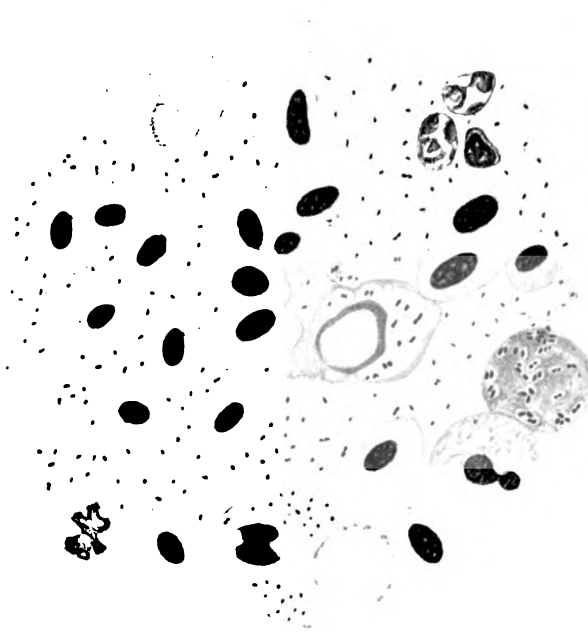


Fig. 4.



Sehr stark ist die Schleimbildung in Bouillon; dieselbe trübt sich rasch gleichmäßig, an der Oberfläche häuft sich eine dickere Masse; sie wird nach einigen Tagen so zäh, daß man Fäden von $1\frac{1}{2}$ m Länge daraus ziehen kann.

In Milch ist Wachstum und Schleimbildung ganz besonders üppig. Die Milch gerinnt nicht, sie behält ihre schwach alkalische Reaktion. Das Aussehen wird nicht verändert, nur wird sie durch den oben auflagernden Schleim unbeweglich. Hat man mittels Chloroform das Fett aus einem Ausstrichpräparat einer Milchkultur entfernt, so färben sich die Kapseln in einem solchen besonders schön intensiv rot in Thionin.

Auf der Kartoffel wächst das B. c. recht gut, es bildet aber keinen Schleim, und nur kapsellose Altersformen kommen zur Entwicklung. Schon nach 24 Stunden ist die Kartoffelscheibe leicht grau gefärbt; der Farbenton wird immer tiefer; nach 2—3 Wochen ist die Scheibe dunkelviolettblau-grau. Die Bakterien entwickeln sich als Belag, der anfangs hellgelblich ist, später immer dunkler wird, die Konsistenz und Farbe von Karamel crême annimmt und blank glänzt. Der Belag erreicht eine Dicke von 1—1,5 mm.

In zuckerhaltiger Gelatine findet keine Gärung statt; das Wachstum ist spärlich — wohl wegen der reduzierenden Eigenschaft des Zuckers —, in der Tiefe des Stiches bleibt es ganz zurück. In den oberen Schichten trübt sich die Gelatine; leichte Fluorescenz tritt später und schwächer auf als in gewöhnlicher Gelatine.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Aus einem Ausstrichpräparat vom blutigen Eiter aus der Leibeshöhle eines intraperitoneal geimpften Karpfens. Vergr. 1:800. Thioninfärbung.

Fig. 2. *Bacterium cyprinica* von einer frischen Agarkultur. Die Bakterien zum Teil scharf gefärbt mit zarter Kapsel, zum andern Teil schwächer gefärbt, weil chromatische Substanz in die Kapsel diffundiert ist. Vergr. 1:1000.

Fig. 3. *Bacterium cyprinica* von einer Kartoffelkultur. Kapsellose Form, wie sie auf manchen Nährböden und immer in alternden Kulturen entstehen. Vergr. 1:1000.

Fig. 4. Viertägige Gelatinstichkultur.

Nachdruck verboten.

Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege.

Von Paul Steiger,

Dr. med. vet. in Wattenwil bei Bern (Schweiz).

(Fortsetzung.)

Beim Versuch, diese Mikrokokken mit anderen bekannten Kokken zu vergleichen, kann man sich überzeugen, daß sie mit anderen bekannten Arten wenig gemein haben und nicht im mindesten mit irgend einem bekannten Coccus zu identifizieren wären. Am nächsten sind sie mit dem *Micrococcus candidans* (Flügge), einem runden, $1,2 \mu$ großen, auf allen gebräuchlichen Nährböden gut wachsenden Coccus, der Gelatine nicht verflüssigt und Milch schwach sauer macht, verwandt. Die größte

Uebereinstimmung besteht zwischen diesem und dem *Galactococcus albus*.

Die Virulenz der Galaktokokken scheint nach den Versuchen Guillebeaus eine geringe zu sein. Einem Hunde brachte die subkutane Injektion von 1 g Reinkultur keinen Nachteil. Ebenso ertrugen junge Kätzchen große Mengen von mit diesen Mikroorganismen infizierter Milch sehr gut oder sie veranlaßte nur vorübergehende Abnahme der Freßlust. Ein weiterer Beweis geringer Pathogenität sind die im allgemeinen leichten Euterentzündungen, welche die Galaktokokken verursachen. Sämtliche Fälle von Galaktokokkeninfektion sind abgeheilt; ebenso hat Guillebeau diese Mastitiserreger meistens nur in leichten Fällen gefunden.

Soweit ich die diesbezügliche Literatur verfolgen konnte, hat nach Guillebeau kein Forscher Galaktokokken gefunden, bis mir Gelegenheit geboten wurde, eine Anzahl Mastitisfälle auf ihre Erreger hin zu untersuchen.

In meinen Fällen fand ich nebst den Staphylokokken manchmal andere Kokkenarten, die sich mit den Befunden Guillebeaus über Galaktokokken in den meisten und wichtigsten Punkten decken. Es sind runde, kaum 1 μ große, nach Gram färbbare Kokken, die in Pferdefleischbouillon unter Bildung eines schleimigen Bodensatzes und schwacher diffuser Trübung der Flüssigkeit gut gedeihen. Gelatine verflüssigen sie nicht oder erst nach vielen Wochen sehr langsam; sie wachsen teils mit, teils ohne Nagelkopfbildung, aërob und anaërob. Milch wird jedesmal nach 2 bis mehreren Tagen stark sauer und gerinnt zu einer homogenen Masse. Die hauptsächlichsten kulturellen Unterschiede meiner Kokken zeigten sich ebenfalls im Gelatinestich und auf Kartoffeln, auf Grund deren ich die Unterscheidung in einen *Galactococcus versicolor*, *fulvus* und *albus* beibehalten habe.

C. Streptokokken.

Fall No. 1 und 2. 2 Kühe.

Von der ambulatorischen Klinik wird bei 2 Kühen im gleichen Stall die klinische Diagnose Galt gestellt und hierauf die Milch beider Kühe mir zur Untersuchung übergeben. Das Sekret ist leicht gelb und enthält feine Gerinnsel. Beim Stehen bildet sich ein weißer Bodensatz, über dem sich ein gelbes Serum ausscheidet. Im Strichpräparat findet man nach Gram färbbare Ketten bis zu 10 Gliedern und einzelne Kokken.

Klinische Diagnose: Galactophoritis acuta enzootica (Galt) wahrscheinlich.
Ausgang: Mästung und Schlachtung.

Auf den Gelatineplatten sind nach 6 Tagen kleine, hellgraue bis weiße Kolonien in großer Anzahl wahrnehmbar.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, sandiger, lockerer Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in 10–20-gliedrigen Ketten, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Schwaches Wachstum, einige weiße, runde Kolonien deuten den Stich an, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Nach 10 Tagen kein Wachstum.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, stark saure Molke ausscheidend, in der Milch befinden sich kurze und lange bis 20-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis contagiosae*.

Fall No. 3. Kuh.

Symptome: Diese Kuh ist seit einigen Wochen stiersüchtig. Der Melker berichtet, daß sie seit 5 Tagen am linken hinteren Viertel bei den ersten Zügen „Ziger“, d. h. kleine Klümpchen von geronnenem Kasein, gebe. Das Euter ist klein, schlaff,

alle Viertel sind gleich groß, die Lymphdrüsen deutlich fühlbar und vergrößert. Die Milchmenge beträgt 3 l. Die Untersuchung ergibt, daß die erste Milch an allen Vierteln abnorm ist; sie ist gelbweiß, mit großen und kleinen Flocken; später ist sie weiß, normal, doch etwas salzig. Mikroskopisch findet man im Bodensatz kleine und große Fetttropfen, viel Leukocyten und Epithelzellen, daneben Kokken und Kettenkokken, die nach Gram färbbar sind.

Klinische Diagnose: Galactophoritis chronica (sporadischer Galt) im Beginn.

Ausgang: Nach 8 Wochen ist der Zustand noch derselbe.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Leichte Trübung der Bouillon, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in sehr langen Ketten, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Schwaches Wachstum, im ganzen Stich ein hellgraues, durchscheinendes Bändchen von kleinen, runden Kolonien; kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Nach 6 Tagen kein sichtbares Wachstum; die Platinöse wird über die besäte Kartoffel gezogen und nachher in Bouillon getaucht; in dieser wachsen wieder lange Ketten.

Milch: Nach 24 Stunden sehr sauer, nach 36 Stunden fest geronnen; enthält Kokken und 4–10-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae*.

Fall No. 4. Kuh.

Der Besitzer berichtet, daß die Kuh den ganzen Sommer durch an beiden hinteren Vierteln wenig Milch und häufig Gerinnsel im Sekret gegeben habe, bis das rechte dieser Viertel verödete; an den beiden vorderen Vierteln lieferte die Kuh täglich 3 l Milch, die der Besitzer immer in der Küche verwendete.

Symptome: Das Euter ist klein und schlaff, die vorderen Viertel größer als die hinteren, weich elastisch. Beide hinteren Viertel sind kaum faustgroß, das rechte mit einem nußgroßen, harten Knoten in der Tiefe. Das Sekret der vorderen Viertel ist normal, doch schmeckt es salzig. Das rechte hintere Viertel liefert ca. 20 g erbsmußähnliches, dickes, krümeliges Sekret, während das linke Viertel 100 g gelbes Serum mit Flocken gibt. In den Strichpräparaten der pathologischen Sekrete sind enorme Haufen langer Kettenkokken.

Klinische Diagnose: Chronische Galactophoritis (Galt).

Ausgang: Bei der absoluten Sicherheit der Diagnose und in Anbetracht des guten Ernährungszustandes des Tieres wurde dasselbe nach einigen Tagen geschlachtet.

In den Gelatineplatten wachsen nach 5 Tagen kleine, hellgraue, durchscheinende Kolonien in großer Anzahl, sowohl in der Tiefe als auf der Oberfläche.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Mäßige diffuse Trübung, fadenförmig aufwirbelnder Bodensatz.

Mikroskopisch: 1 μ große Kokken in sehr langen Ketten bis zu 80 Gliedern.

Gelatinestich: Langsames Wachstum, 10 weiße, runde Kolonien deuten den Stich an, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Nach 48 Stunden kein Wachstum; in der Kontrollbouillon jedoch in langen Ketten gewachsen.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, stark sauer, enthält kurze bis 6-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae*.

Fall No. 5. Kuh.

Aus dem Kanton Basel wird Milch einer Kuh, die schon längere Zeit an einem Viertel graues mit großen Flocken vermischtes Sekret lieferte, zur mikroskopischen

Untersuchung geschickt. In allen Strichpräparaten findet man 3—8-gliedrige Kettenkokken.

Klinische Diagnose: *Galactophoritis chronica (sporadischer Galt) wahrscheinlich.*
Ausgang: Unbekannt, Schlachtung empfohlen.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, lockerer Bodensatz.

Mikroskopisch: Kurze und sehr lange Ketten.

Gelatinestich: Langsames Wachstum, in der Tiefe weiße, runde Kolonien, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Auf einer Kartoffel ein dünner, weißer Belag von kurzen und langen Ketten; auf einer zweiten Kartoffel kein Wachstum.

Milch: Nach 3 Tagen fest geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae.*

Fall No. 6. Kuh.

Sektionsbefund: Das linke hintere Viertel ist beim Vergleich mit den anderen Vierteln etwas vergrößert, doch elastisch. In der Cisterne ist ein graues, trübes Sekret mit grauen Flocken. In den Milchgängen sitzt ein grauer, dicker, klumpiger, zäher Eiter. Die Drüsenlappchen sind glatt; die Lymphdrüsen etwas groß, auf der Schnittfläche glatt und feucht.

Pathologisch-anatomische Diagnose: *Chronisch-eiterige Galactophoritis (Galt) des linken hinteren Viertels.*

In den Strichpräparaten vom Sekret und vom Eiter sind sehr viele lange Streptokokken, im Drüsensaft sind keine Bakterien zu finden. Es werden vom Sekret, vom Eiter und vom Drüsensaft Gelatineplatten angelegt; in allen wachsen nach 4 Tagen kleine, hellgraue durchscheinende Kolonien in Reinkultur.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Leichte Trübung der Bouillon in der unteren Hälfte, sandiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Lange Ketten von 1 μ großen Kokken.

Gelatinestich: Schwaches, langsames Wachstum, kleine, weiße, runde Kolonien im ganzen Stich, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Teils kein Wachstum, teils ein solches als dünnes, weißes Häutchen. In Bouillon übertragen, entstehen darin lange Ketten.

Milch: Nach 18—24 Stunden fest geronnen und stark sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae.*

Fall No. 7. Kuh.

Symptome: Die Kuh liefert seit 10 Tagen am linken vorderen Viertel abnorme Milch; das Leiden begann mit leichtgradigen Entzündungserscheinungen am Euter. Die Milch war anfangs weiß mit Flocken, bald jedoch wurde sie rötlich und enthielt weißgraue Flocken. Die Reaktion des Sekretes ist alkalisch. Das Viertel ist heute noch ganz wenig vermehrt warm und empfindlich, die untere Partie etwas derb und die gleichseitigen supramammären Lymphknoten etwas vergrößert. Die Milch der übrigen Viertel ist wenig vermindert, zeigt aber normales Aussehen. Im Sekret des kranken Viertels sind mikroskopisch sehr viele kurze 3—5-gliedrige Streptokokken zu finden.

Klinische Diagnose: *Galactophoritis chronica (Galt) wahrscheinlich.*

Ausgang: Nach 5 Wochen kehrt der Zustand langsam zum Normalen zurück.

In den Platten wachsen zahlreiche kleine, hellgraue Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung mit sandig-staubig aufwirbelndem Bodensatz.

Mikroskopisch: Kurze Ketten von höchstens 10 Gliedern, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Mäßiges Wachstum, feinkörniger, weißer Stich von zahlreichen, runden Kolonien; keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Sehr dünnes, weißes Häutchen.

Milch: Nach 36—48 Stunden fest geronnen, stark sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae*.

Fall No. 8. Kuh.

Symptome: Vor 14 Tagen erkrankte die Kuh, welche pro Melkzeit 9 l Milch lieferte, am linken hinteren Viertel an einem Euterkatarrh; das Viertel war vergrößert, derber, und enthielt eine eigroße Cyste; durch Behandlung mit Jodkalisalbe verschwand die Cyste, der Katarrh jedoch wurde stets intensiver und die Milchmenge nahm beständig ab; auch die übrigen Viertel wurden in verschiedenen starkem Grade ergriffen. Alle Viertel waren größer, derber, am stärksten verändert war das zuerst ergriffene linke hintere Viertel. Im Anfang des Leidens war das Sekret noch weiß, mit Flocken vermischt; bald wurde es stärker verändert und erhielt an allen Vierteln ziemlich gleiches Aussehen. Bei den ersten Zügen entleerte sich eine dicke, klumperige, gelbe, eiterartige Masse, der später ein graues mit zahlreichen Flocken vermisches Sekret folgte, das sich beim Stehen in einen graugrünen, die Hälfte des Volumens bildenden Bodensatz, und in eine graue, trübe Molke schied, über der eine dünne Rahmschicht lagerte. Die Reaktion der Sekretprobe war alkalisch. Mikroskopisch wurden im Sekret 4—15-gliedrige Ketten nachgewiesen.

Klinische Diagnose: *Galactophoritis chronica*.

Ausgang: Schlachtung nach einigen Tagen.

In den Gelatineplatten wachsen nach 5 Tagen kleine, ca. 1 mm große hellgraue Kolonien in großer Anzahl.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Flüssigkeit schwach getrübt, sandiger, leicht aufwirbelnder Bodensatz.

Mikroskopisch: 20—40-gliedrige Ketten, nach Gram färbbare Kokken.

Gelatinestich: Schwaches Wachstum, kleine, weiße, runde Kolonien, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Kein Wachstum.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, klare Molke auf dem homogenen Niederschlag.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae*.

Fall No. 9. Kuh.

Symptome: Gute Milchkuh, nahm nach und nach an der Milchmenge ab, das Euter wurde immer kleiner, das rechte vordere Viertel blieb stets größer als die anderen; bald wurde die Milch abnorm und war dann in kurzer Zeit ganz schlecht. Während sie an den 3 kleineren Vierteln noch weißlich, salzig und mit vielen Flocken vermischt war, war das Sekret des rechten vorderen Viertels eine graugelbe, erbsmus-ähnliche, krümelige Masse. Die Menge des Sekretes der 3 Viertel betrug noch $1\frac{1}{2}$ l, die des am stärksten ergriffenen Viertels ca. 50 cem. In letzterem waren enorm lange bis 150-gliedrige Ketten.

Klinische Diagnose: *Galactophoritis chronica (sporanischer Gall)*.

Ausgang: Mästung und Schlachtung.

Auf den Gelatineplatten sieht man am 6. Tag kleine, hellgraue Kolonien in großer Anzahl.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, sandiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Lange, bis 50-gliedrige Ketten, die nach Gram färbbar sind.

Gelatinestich: Langsames Wachstum, fein granulierter Stich oder runde, weiße Kolonien, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dünner, weißer, trockener Ueberzug.

Milch: Nach 30 Stunden fest geronnen, sauer, enthält Ketten bis zu 20 Gliedern.

Bakteriologische Diagnose: Streptococcus mastitidis sporadicae.

Fall No. 10. Kuh.

Symptome: Von der ambulatorischen Klinik wird Sekret vom rechten vorderen Viertel einer Kuh mit folgendem Bericht gebracht. Das ganze Euter ist klein, das rechte vordere Viertel ist atrophiert, in der Umgebung der Cisterne hart, höckerig; die anderen Viertel zeigen keine Veränderungen und liefern weißes, süßes Sekret in der Menge von 3—4 l. Das Sekret des rechten vorderen Viertels ist gelb, krümelig, mit grauweißen und gelben Flocken vermischt. Beim Stehen im Glase bildet sich ein graugelber, dicker Bodensatz, über dem ein grauträbes Serum ruht. Dazwischen erkennt man einige rötliche Flocken. Die Reaktion ist stark sauer. Mikroskopisch findet man bis über 100-gliedrige Ketten.

Klinische Diagnose: Galactophoritis chronica (sporadischer Galt) des rechten vorderen Viertels.

Ausgang: Mästung, Schlachtung.

In den Gelatineplatten wächst eine Art kleiner, hellgrauer, runder Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung im unteren Teil der Bouillon, flockiger Bodensatz.

Mikroskopisch: 20—40-gliedrige, nach Gram färbbare Ketten, Korn ca. 1 μ , rund.

Gelatinestich: Langsames Wachstum im Stich, kein Nagel, runde, weiße Kolonien, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Nach 8 Tagen schwaches Wachstum als dünnes, grauweißes, trockenes Häutchen.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, sauer, das Koagulum zieht sich zusammen und preßt klare Molke aus, lange Ketten.

Bakteriologische Diagnose: Streptococcus mastitidis sporadicae.

Allgemeines über Streptokokken.

Die Streptokokken sind kugelige, etwa 1 μ große Kokken, die sich nach der Gramschen Methode färben lassen. Charakteristisch ist die Eigentümlichkeit, sich fortgesetzt nach der gleichen Richtung zu teilen und Ketten von 8, 10, 20 und mehr Gliedern zu bilden, doch soll der Mikroorganismus auch als Diplococcus auftreten. Je nach der Länge der Ketten, welche in gewöhnlicher Bouillon entstehen, wird ein Streptococcus longus und ein Streptococcus brevis unterschieden; dieser bildet nur 4—6-gliedrige Ketten und trübt Bouillon stets, sonst verhält er sich in allen Teilen gleich wie jener. Durch den Streptococcus longus wird Bouillon entweder gleichmäßig getrübt oder sie bleibt ganz klar; bei anderen Stämmen bilden sich aus der diffusen Trübung weiße Flöckchen, die sich auf den Boden setzen und die Bouillon klären. Auf Gelatineplatten wächst der Streptococcus in kleinen, punktförmigen Kolonien, welche die Gelatine nie verflüssigen. Im Impfstich in Gelatine entsteht ein feiner, weißer, zusammenhängender Stich oder die Kolonien sind isoliert und wachsen zu weißen, runden, bis stecknadelkopfgroßen Körnern heran. Auf Kartoffeln gedeiht der Pilz nicht oder in seltenen Fällen nur schlecht. Feste und flüssige Nährböden werden bald sauer. Besonders stark ist die Säurebildung in zuckerhaltigen Nährmedien, wodurch die Streptokokken rasch abgetötet werden.

Bei Uebertragungsversuchen auf Tiere mit Streptokokken, die bei verschiedenen Krankheiten des Menschen gefunden wurden, hat es sich gezeigt, daß die meisten Versuchstiere bei den verschiedenen Infektionsarten nicht sehr empfänglich sind. Weiße Mäuse und Kaninchen sind am empfänglichsten, doch ist der Virulenzgrad ein verschiedener. Daß die Virulenz der Streptokokken mannigfachen Schwankungen unterliegt, beweist der Umstand, daß durch Streptokokken, welche aus Erysipel verschiedener Menschen stammen, bei Kaninchen ganz verschiedene Krankheitsbilder hervorrufen können. Nach der Art der pathologischen Prozesse werden 3 verschiedene Virulenzstufen unterschieden, nämlich wenig virulente Streptokokken und solche mittlerer und höchster Virulenz. Durch fortwährende Züchtung auf künstlichen Nährböden nimmt die Virulenz bedeutend ab, dagegen gelingt es durch Uebertragung von Tier zu Tier wenig virulenten Kulturen den höchsten Grad der Virulenz zu erteilen.

Aus den Resultaten, welche Grönning (14) bei der Prüfung der Virulenz erhalten hat, geht hervor, daß einige Streptokokkenarten, sowohl der kurzen als auch der langen Form, pathogene Eigenschaften besitzen. Galtstreptokokken wiesen für Mäuse eine größere Pathogenität auf als Streptokokken aus dem Rinderdarm und dem Stallboden.

Mit Ausnahme eines einzigen Falles, A No. 3, konnte ich in allen denjenigen Fällen, wo die klinische Diagnose Galt (*Galactophoritis acuta enzootica et chronica sporadica*) sicher oder wahrscheinlich war, Streptokokken mikroskopisch und kulturell nachweisen. Ich habe mich dabei an die Untersuchungsmethode Grönning's gehalten, der 1901 durch eingehende Forschungen und Experimente unsere Kenntnisse über Streptokokken erweitert hat. Meine Untersuchungen können dazu nichts Neues liefern, wohl aber die Angaben Grönning's über morphologische, biologische und kulturelle Eigentümlichkeiten dieses für die Mastitiden so bedeutsamen Mikroorganismus in vollem Umfange bestätigen.

Die Streptokokken gehören mit den Coli-Bacillen zu den wichtigsten und gefährlichsten Erregern von Euterleiden, indem die einmal ergriffenen Euterpartien meistens für die Sekretion verloren sind, wie mehrere meiner Fälle dies wieder beweisen. Sie erzeugen in den Milchgängen chronisch verlaufende Entzündungsprozesse, die zu Agalaktie und Atrophie des Euters führen. Selten sind sie Urheber leichterer, immerhin langsam abheilender Euterkatarrhe (Fall 7), die eine Resolution ad integrum voraussehen lassen. In einem meiner Fälle erhielt das Leiden seuchenartigen Charakter (Fälle 1 und 2).

D. Colibacillen und *Bacillus aërogenes*.

Fall No. 1 Kuh.

Symptome: Das Allgemeinbefinden des Tieres ist sehr getrübt; Rektaltemperatur 40,5, Pulszahl 98, Respirationen 45 pro Minute. Freßlust und Rumination vollständig aufgehoben. Pausenperistaltik unterdrückt, Kot wird häufig in kleinen Mengen abgesetzt, er ist mit Schleimfetzen überzogen; große Schwäche in den Gelenken. Das Euter ist klein, asymmetrisch; die beiden Bauchviertel sind schlaff, ohne entzündliche Erscheinungen, liefern noch einige Tropfen normaler Milch, die später gelb wird; das linke hintere Viertel ist infolge einer Mastitis verödet und sezerniert nicht mehr. Das rechte hintere Viertel ist vergrößert, scheibenförmig, hart, schmerzhaft und vermehrt warm. Die Menge des Sekrets beträgt einige Kubikcentimeter, es ist gelb, erbsmusähnlich, mit kleineren und größeren weißen Flocken vermischt und leicht harzig. Die Lymphknoten hühnereigroß. Im Sekret sind mikroskopisch nur nach Gram nicht färbbare Stäbchen nachzuweisen.

Klinische Diagnose: Schwerer Fall von Mastitis parenchymatosa und sekundär Kreuzschwäche und Magendarmkatarrh.

Ausgang: Atrophie des Drüsenparenchyms und Induration desselben; Sistierung der Sekretion.

In den Gelatineplatten wachsen nur eine Art von Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung mit grauweißem flockigen Bodensatz; Indolreaktion positiv.

Mikroskopisch: Nach Gram nicht färbbare Stäbchen von 2 μ Länge und kaum 1 μ Breite.

Gelatinestich: Gutes Wachstum im Stich und an der Oberfläche, indem sich ein runder, grauer Nagel bildet. In 1-proz. Zuckergelatine bilden sich viele Gasblasen.

Milch: Nach 36 Stunden fest geronnen, sauer.

Kartoffeln: Schmutzig gelblichweißer, dicker Ueberzug.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 2 Kuh.

Am 14. August 1902 wurden Euter, Leber und Lunge einer Kuh, die während 3 Wochen an Mastitis necrotica des linken hinteren Viertels litt, zur Sektion gebracht.

Sektionsbefund: Das linke hintere Viertel enthält einen faustgroßen, harten zentralen und einen apfelgroßen weiter nach hinten gelegenen Knoten; diese bestehen aus vielen kleinen nekrotischen Herden mit deutlicher Demarkation. Das nekrotische Gewebe ist trocken; das Drüsengewebe befindet sich im Zustande der Ruhe. Die supramammären Lymphknoten sind groß; in den Milchgängen kommt fibrinöses Exsudat vor.

In der Leber sitzen 1 mm große, gelbe Knötchen in großer Anzahl an der Oberfläche und in der Tiefe.

In der Lunge befinden sich mehrere nußgroße, luftleere dunkelrote Herde.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Mastitis necrotica mit Metastasen nach Leber und Lunge.

Von allen 3 Organen wurden Gelatineplattenkulturen angelegt. In den Platten von den Euterknoten wuchs nur eine Art von nicht verflüssigenden Stäbchen, die grauweiße, glänzende, anfangs ganzrandige, später gelappte Kolonien bildeten.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung mit feinflockigem Bodensatz. In Peptonbouillon nach 4 Tagen deutliche Indolreaktion.

Mikroskopisch: 2 μ lange, schwach 1 μ breite Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Gutes Wachstum mit rundem, wenig gebuchtetem, flachem Nagel, keine Verflüssigung, Gasbildung.

Kartoffeln: Schmutzig gelblichweißer, dicker Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, sauer, getrennt in schwach trübes Serum und einen zerklüfteten Niederschlag.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

In den Platten der Leber wuchsen 3 Arten Bakterien. Die Mehrzahl waren weiße, glänzende, ganzrandige Kolonien; daneben waren wenige orange und schwefelgelbe Kolonien. Diese beiden chromogenen Bakterienarten, welche ziemlich große Kokken darstellten, brachten weder Milch zur Gerinnung, noch konnten sie in zuckerhaltiger Bouillon eine Säuerung veranlassen; sie wurden daher als bedeutungslose Luftkokken erklärt, die sich bei der Entnahme des Materials eingemischt hatten. Die weißen Kolonien jedoch, welche aus Stäbchen bestanden, verhielten sich in den verschiedenen Nährmedien absolut gleich wie jene Stäbchen aus dem Euter und sind diese Bakterien ebenfalls als Coli-bacillen zu betrachten.

Aus der Lunge konnten keine Coli-Bacillen gezüchtet werden, sondern nur gelbe und orangefarbene Luftkokken.

Fall No. 3 Kuh.

Symptome: Die Kuh litt seit 2 Tagen an einer leichten parenchymatösen Mastitis; am 2. Tage trat ein starker Schüttelfrost auf und wenige Stunden später waren die Erscheinungen folgende: Allgemeinbefinden getrübt, Temperatur 40,5° C, Pulszahl 80, Respirationen 35 pro Minute. Freßlust und Rumination vermindert, Pansenperistaltik träge, Kot schleimig.

Das Euter ist asymmetrisch, das linke hintere Viertel sehr bedeutend vergrößert, hart, schmerzhaft und vermehrt warm, die Haut gespannt; die anderen Viertel sind normal, ebenso das Sekret, das von 8 auf 3 l zurückgegangen ist. Das Sekret des linken hinteren Viertels bildet ein gelblichgraues Serum mit weißen Flocken in der Menge von 50 g. Reaktion alkalisch. In den Strichpräparaten des Sekrets befinden sich nur Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa und sekundär leichter Magendarmkatarrh.

Ausgang: Nach 4 Wochen bildeten sich im Viertel mehrere harte, rundliche

Knoten und mit dem wenigen Sekret entleerten sich stets lange, zähe Gewebsetzen. Herdförmige Nekrose mit Verödung des Viertels war hier also die Folge.

In den Platten wachsen nur eine Art von Bakterien als grauweiße, ganzrandige Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke Trübung der Bouillon mit flockigem Bodensatz. Die Indolreaktion gibt ein helles Rot.

Mikroskopisch: $1\frac{1}{2}$ μ lange und 1μ dicke Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum, unregelmäßig gerandeter flacher Nagel, keine Verflüssigung, in zuckerhaltiger Gelatine starke Blasenbildung.

Kartoffeln: Schmutzig gelbbrauner, dicker, feuchter Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, sauer; es bildet sich eine 4 mm dicke Rahmschicht und ein zerklüfteter Bodensatz, zwischen denen sich ein gashaltiges gelbliches Serum befindet.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 4 Kuh.

Symptome: Die Kuh leidet seit 8 Tagen an einer Mastitis des rechten hinteren Viertels. Dasselbe ist mäßig vergrößert, derb, hart, besonders in der Umgebung der Cisterne. Die Menge des Sekrets beträgt nur noch einige Kubikcentimeter; es ist ein klares gelbliches Serum mit grauen Flocken von alkalischer Reaktion.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa.

Ausgang: Das Viertel wird stets größer, derb und hart; seine Temperatur schwankt stark. Das Sekret ist graugelb, klebrig und stinkt abscheulich.

Im Sekret sind nur kurze Stäbchen vorhanden.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: In 24 Stunden starke diffuse Trübung, feinflockiger Bodensatz. Die Indolreaktion gibt in 6 Tagen eine intensive Rötung.

Mikroskopisch: $1\frac{1}{2}$ μ lange, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, unregelmäßiger, flacher, grauer Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dicker, gelblichweißer, glänzender Belag.

Milch: Nach 30 Stunden fest geronnen, sauer, Niederschlag durch Gasblasen stark zerklüftet.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 5 Kuh.

Symptome: Eine Kuh, die pro Melkzeit 10 l Milch lieferte, erkrankte während der Nacht an einer schweren Mastitis des linken hinteren Viertels. Dasselbe ist groß, scheibenförmig und heiß. Das auf ein Minimum reduzierte Sekret ist ein graues, trübes Serum mit feinen weißen Flöckchen. Es reagiert alkalisch und enthält nur kurze Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Klinische Diagnose: Schwere parenchymatöse Mastitis.

Ausgang: Resolution innerhalb 10 Tagen. In allen Gelatineplatten wächst ein Bakterium in Reinkultur; die Kolonien sind anfangs weiß, ganzrandig, später werden sie wie Actinomyces-Pilze gelappt und erhalten eine gelbbraunliche Farbe; die Oberfläche wird granuliert, gerippt; die Kolonien sind prominent.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse schwache Trübung, dicker grauer Bodensatz, der etwas fadenziehend ist, Kahlhaut, kein Indol.

Mikroskopisch: 2–3 μ lange, 1μ dicke, an den Enden abgerundete, nach Gram nicht färbbare, schwach bewegliche Stäbchen.

Gelatinestich: Nach 2 Tagen gutes Wachstum in Form eines hellgrauen, welligen Bandes mit flachem, glattem Nagel, der am Rande dicker ist; keine Verflüssigung. In zuckerhaltiger Gelatine sehr starke Gasbildung.

Kartoffeln: Nach 24 Stunden ein dicker, feuchter, gelblichweißer Belag mit feinen Gasbläschen.

Milch: Nach 36 Stunden fest geronnen, der Niederschlag zerklüftet, bröckelig; darüber eine hellgrüne Molke mit einer Rahmdecke. Reaktion stark sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Bacillus aërogenes*.

Fall No. 6 Kuh.

Symptome: Plötzlich erkrankt das rechte hintere Viertel an einer Mastitis. Viertel sehr groß, scheibenförmig, hart, schmerzhaft, heiß. Sekret nur einige Kubikcentimeter gelblich trüben Serums mit grauen Flocken; es ist alkalisch und enthält in den Strichpräparaten nur Stäbchen.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa.

Ausgang: Atrophie und Induration.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, flockiger Bodensatz, Indolbildung.

Mikroskopisch: 2 μ lange Stäbchen, nach Gram nicht färbbar.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, grauer, flacher, glänzender Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Hellbrauner, mäßig dicker Belag.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, stark sauer, Niederschlag stark zerklüftet.

Bakteriologische Diagnose: *Coli-Bacillen*.

Fall No. 7 Kuh.

Symptome: Die Kuh erkrankte vor 11 Tagen an einer schweren Mastitis beider Viertel der rechten Seite. Das Sekret war stark verändert und auf ca. 50 ccm reduziert; leider wurde mir der Fall erst nach 11 Tagen bekannt.

Heutiger Befund: Die ergriffenen Viertel sind größer, härter und schwerer als die gesunden; vermehrte Wärme und Schmerzhaftigkeit sind verschwunden. Das alkalische Sekret ist weiß mit größeren und kleineren Flocken und enthält in den Strichpräparaten kurze Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Klinische Diagnose: In Abheilung begriffene schwere parenchymatöse Mastitis.

Ausgang: Langsame Abheilung, Milch wird wieder normal, Menge um $\frac{1}{8}$ vermindert.

In den Gelatineplatten nur eine Art von Kolonien, die in Gelatine vorgewölbt sind, eine hellbraune Farbe und granuliert Oberfläche erhalten.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Mäßige diffuse Trübung, dicker, etwas schleimiger Bodensatz, dünne Kahlhaut, kein Indol.

Mikroskopisch: 2—3 μ lange, 1 μ dicke Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Gutes Wachstum als welliges grauweißes Band mit breitem, dickem Nagel, keine Verflüssigung, Gasbildung.

Kartoffeln: Stark feuchter, hell gelblichbrauner, dicker Belag.

Milch: Nach 2 Tagen fest geronnen, stark sauer, über dem zerklüfteten Niederschlag scheidet sich eine gräulichgrüne Molke aus.

Bakteriologische Diagnose: *Bacillus aërogenes*.

Fall No. 8 Kuh.

Symptome: Vor 2 Tagen erkrankte die Kuh an einer schweren Mastitis des rechten vorderen Viertels. Dasselbe ist stark vergrößert, überall derb und hart, sehr schmerzhaft und heiß. Das auf 100 ccm reduzierte Sekret ist grau-wässrig mit weißen Flocken, worin mikroskopisch Stäbchen und Diplokokken zu finden sind; beide sind nach Gram nicht färbbar.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa des rechten vorderen Viertels.

Ausgang: 3 Wochen später meldet der Besitzer, daß das Viertel vollständig gleich sei wie die anderen. Die Kuh steht jetzt trocken und es ist die beste Hoffnung vorhanden, daß die Sekretion nach dem Kalben wiederkehrt.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, starker, schleimiger, leicht gelblicher Bodensatz; kein Indol.

Mikroskopisch: 2 μ lange, kaum 1 μ dicke, nach Gram nicht färbbare Stäbchen, die häufig als Diplokokken vorkommen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, runder, flacher, orangefarbener Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Gutes Wachstum, orangefarbener, dicker, feuchter Ueberzug.

Milch: Nach 6 Tagen geronnen, trübe Molke ausgeschieden, sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 9 Kuh.

Symptome: Die Kuh kalbte vor 3 Wochen. Gestern erkrankte das linke hintere Viertel an einer leichten Entzündung, die rasch zunahm. Das Viertel ist mäßig vergrößert, derb, vermehrt warm und schmerzhaft. Um die Cisterne sind mehrere kleinere und größere harte Knötchen, über denen die Haut verschiebbar ist. Das Sekret ist grau mit Flocken, alkalisch und enthält mikroskopisch nur Stäbchen.

Klinische Diagnose: Mittelschwerer Fall von Mastitis parenchymatosa des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Abheilung, Wiederkehr der Sekretion.

In allen Platten wachsen nur eine Art von hellgrauen, lappigen Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse Trübung, Bodensatz schleimig, Indolbildung.

Mikroskopisch: 1 $\frac{1}{2}$ —2 μ lange, 1 μ dicke Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, runder, flacher Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Hellbrauner, dicker, feuchter Ueberzug.

Milch: Nach 3 Tagen geronnen, sehr sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 10 Kuh.

Symptome: 3 Tage nach der Geburt erkrankte die Kuh an einer Mastitis des linken hinteren Viertels; 5 Tage später ist folgendes zu konstatieren: Das Viertel ist stark vergrößert, derb, hart, sehr schmerzhaft, wenig vermehrt warm, am unteren Rande ödematös, die Haut noch ziemlich gut verschiebbar. Das Sekret bildet zu $\frac{1}{10}$ der Menge ein gelblichrötliches Serum mit vielen graugelben Eiterklumpen. Im Anfang des Melkens stinkt es sehr intensiv, doch verliert sich der Gestank nach und nach, so daß der Rest des herausgezogenen Sekrets nur noch wenig riecht. Die Reaktion ist alkalisch, mikroskopisch sind nur massenhaft kurze, nach Gram nicht färbbare Stäbchen zu finden.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Bildung nekrotischer Herde, Verödung des Viertels.

In den Gelatineplattenkulturen wachsen eine Art von Kolonien, die nach einigen Tagen ein wachstropfenähnliches Aussehen erhalten.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, grauer dicker Bodensatz, Indolbildung schwach.

Mikroskopisch: 1,5 μ lange, fast 1 μ dicke Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Gutes Wachstum als graues, welliges Band, flacher Nagel mit vielen Einkerbungen; in zuckerhaltiger Gelatine Gasbildung.

Kartoffeln: Gelblichweißer, klebriger, ziemlich dicker, feuchter Ueberzug.

Milch: Gerinnt nach 36 Stunden; zerklüfteter Niederschlag, grau-trübe Molke, sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 11 Kuh.

Symptome: Die Kuh kalbte vor 6 Wochen und lieferte täglich 15—20 l Milch. Gestern erkrankte sie an einer Mastitis des rechten vorderen Viertels; dasselbe ist mäßig vergrößert, ziemlich hart, sehr schmerzhaft, vermehrt warm. Das Sekret ist rötlichgelb mit grauen Flocken, wird in der Menge von 100—150 ccm pro Tag sezerniert und reagiert alkalisch. Die Milchmenge der übrigen Viertel hat bedeutend abgenommen. Im kranken Sekret findet man mikroskopisch sehr viele kurze, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa des rechten vorderen Viertels.
Ausgang: Induration des Viertels, Zurückbleiben der Sekretion.

In Platten ausgesät, wächst darin 1 Art von Kolonien, die an der Oberfläche rasch größer werden als in der Tiefe.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse starke Trübung, nach 24 Stunden ein dicker grauer Bodensatz, Indolreaktion stark.

Mikroskopisch: 1—2 μ lange, schwach 1 μ dicke Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar sind.

Gelatinestich: Rasches gutes Wachstum sowohl im Stich als an der Oberfläche, wo sich ein breiter, weinblattförmig gebuchteter, flacher Nagel bildet; keine Verflüssigung, starke Gasbildung.

Kartoffeln: Dicker, hellbrauner, feuchter Belag.

Milch: Gerinnt rasch, über dem schwach bröckeligen Niederschlag scheidet sich klare Molke ab, Reaktion stark sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 12 Kuh.

Symptome: Die Kuh erkrankte vor 48 Stunden an einer Entzündung des linken hinteren Viertels. Der Besitzer massierte dasselbe mit Milch; die Entzündungserscheinungen nahmen dann rasch ab, das Viertel wurde wieder klein, blieb jedoch in der unteren Hälfte derb; das Sekret wurde schleimig, flockig mit weißen Gerinnseln. Nach 36 Stunden erkrankte das rechte vordere Viertel hochgradig; es ist groß, derb, schmerzhaft, vermehrt warm; das Sekret ist ein gelbliches Serum mit wenigen Flocken und reagiert alkalisch; die Menge beträgt 120,0 g pro Tag. Die gesunden Viertel liefern zur Zeit noch 1 l normale Milch. Im pathologischen Sekret findet man mikroskopisch viele nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Klinische Diagnose: Mastitis parenchymatosa mittleren Grades des linken hinteren und schweren Grades des rechten vorderen Viertels.

Ausgang: Nach 6 Tagen war das Sekret des rechten vorderen Viertels wieder grauweiß; der Zustand besserte sich rasch. Plötzlich trat ein Rückschlag ein, es bildeten sich in der Tiefe nekrotische Herde und die Sekretion sistierte.

Es werden 2 Serien von Gelatineplatten angelegt, die eine vom Sekret des linken hinteren Viertels, die andere von demjenigen des

rechten vorderen Viertels. In allen Platten wächst eine Art von Kolonien. Dieselben sind anfangs weiß, später bräunlich, in 5 Tagen werden die oberflächlichen 1—2 mm breit, tropfenförmig erhaben, ganzrandig mit bräunlichem Zentrum, Gelatine nicht verflüssigend; die tiefen Kolonien bleiben klein.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung nach 18 Stunden, wenig flockiger Bodensatz, feines Häutchen, keine Indolbildung.

Mikroskopisch: 2 μ lange, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Flacher, bandförmiger Stich, flacher, glatter, ziemlich dicker Nagel mit einer Delle in der Mitte, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dicker, feuchter, hellbrauner Belag.

Milch: Nach 24—36 Stunden geronnen, sauer, über dem zerklüfteten Niederschlag sitzt eine trübe Molke.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 13 Kuh.

Sektionsbefund: Es wird ein Stück Euter einer Kuh, die vor kurzem geworfen hatte, dann an schleimigem Durchfall und zugleich an Mastitis aller Viertel erkrankte, zur Sektion gesandt. Nach Bericht habe in einem Viertel bedeutende Gasbildung stattgefunden. Das eingesandte Stück Eutergewebe ist von dunkelblauer Farbe, Interstitien breit, serös durchfeuchtet; in den Gängen und in der Cisterne weiße Pfröpfe geronnener Substanz, die keine Leukocyten enthält. Mikroskopisch sind in Strichpräparaten eine Unmasse nach Gram nicht färbbarer Stäbchen zu finden.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Mastitis necrotica aller Viertel.

In allen Gelatineplatten wachsen weiße, glänzende, runde, wachstropfenähnliche Kolonien in großer Anzahl.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, dicker, flockiger Bodensatz, Indolbildung.

Mikroskopisch: Nach Gram nicht färbbare Stäbchen von 1 $\frac{1}{2}$ —2 μ Länge.

Gelatinestich: Gutes Wachstum im Stich und an der Oberfläche, glatter, glänzender, unregelmäßig geformter, flacher Nagel. In 1-proz. Zuckergelatine enorme Gasbildung.

Kartoffeln: Mäßig dicker, hellbrauner, feuchter, körniger Belag.

Milch: Rasch dick breiartig geronnen, über dem Niederschlag, der sich fest zusammenzieht, scheidet sich eine klare, stark saure Molke aus.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Fall No. 14 Kuh.

Symptome: Am Abend zeigte die Kuh ein wenig vergrößertes linkes vorderes Viertel; das Sekret war scheinbar normal, gerann jedoch beim Kochen. Am anderen Morgen lag die Kuh am Boden, konnte nicht mehr aufstehen, zeigte ein schwer getrübbes Allgemeinbefinden, 40,0° C Rektaltemperatur, 80 Pulse pro Minute. Froßlust und Rumination vollständig aufgehoben, Pausenperistaltik unterdrückt. Mit großer Mühe wurde das Tier aufgestellt, es stand eine Viertelstunde und legte sich dann plump nieder. Die unterdessen vorgenommene Untersuchung des Euters ergab folgendes: Das Euter ist mittelgroß, asymmetrisch, das linke vordere Viertel stark vergrößert, derb, heiß, schmerzhaft; das auf einige Tropfen reduzierte Sekret ist graugelb, krümelig, mit gelben Fetzen vermischt. Die Milchmenge der gesunden Viertel sank auf $\frac{1}{2}$ l pro Mal.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa und sekundär Kreuzschwäche und Magendarmkatarrh.

Ausgang: Nach 8 Wochen ist das Viertel noch etwas derb und liefert ca. $\frac{1}{4}$ der früheren Milchmenge.

In den Gelatineplatten wächst eine Art von weißen Kolonien.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, wenig grauer flockiger Bodensatz, an der Oberfläche viele kleine Gasbläschen, Indolreaktion hellrot.

Mikroskopisch: 2 μ lange, 1 μ breite, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum im Stich und an der Oberfläche, flacher, am Rande etwas dickerer, 3-lappiger Nagel, keine Verflüssigung, Gasbildung.

Kartoffeln: Mäßig dicker, feuchter, gelblichbrauner Ueberzug.

Milch: Nach 3 Tagen geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

Allgemeines über *Bacillus coli commune* und *Bacillus aërogenes*.

Kruse beschreibt den *Bacillus aërogenes* als ein unbewegliches, nach Gram nicht färbbares Kurzstäbchen von 1–2 μ Länge und 0,5–1,0 μ Breite. In der Tiefe der Gelatine bildet es runde, granulirte, graubräunliche Kolonien, auf der Oberfläche große, porzellanweiße, im Zentrum granulirte Tropfen. Im Gelatinestich Nagelkultur mit rundem Kopf, häufig Gasbildung. Bouillon wird getrübt, an deren Oberfläche bildet sich häufig ein schleimiges Häutchen, am Boden ein fadenziehendes Sediment. Auf Kartoffeln saftige, weißlichgelbe, dicke Wucherung, häufig mit Gasblasen. Milch wird unter Säure- und Gasbildung schnell koaguliert. Indol wird nicht gebildet.

Für die gewöhnlichen Versuchstiere ist der *Bacillus aërogenes* nur in größeren Dosen und hauptsächlich durch seine fertiggebildeten Produkte pathogen. Subkutan injiziert, erzeugt er bei Kaninchen lokalisierte Eiterung, bei Meerschweinchen und Mäusen intraperitoneal eingespritzt, eitrige Peritonitis und Tod nach 24 Stunden.

Der *Bacillus coli commune* ist nach dem gleichen Autor ein bewegliches, 0,4–0,7 μ breites und 1–3 μ langes Stäbchen, das nach Gram nicht färbbar ist. Bouillon wird rasch stark diffus getrübt. Die Kolonien in der Tiefe der Gelatine sind klein, rund, gelblich bis bräunlich; die oberflächlichen breiten sich typischerweise flach aus und haben einen gebuchteten, weinblattartigen Umriß. Der Nagel des Gelatinestiches ist flach buchtig; in zuckerhaltiger Gelatine starke Gasbildung. Das Wachstum auf Kartoffeln ist recht üppig in Form eines dicken, feuchten, meist gelblich-bräunlichen Belages. Milch wird ebenfalls unter Säuerung in ein bis wenigen Tagen koaguliert. Indol wird in verschiedener Menge gebildet.

Die Virulenz des *Bacillus coli commune* verschiedenen Ursprungs ist sehr schwankend. Mäuse sterben nach intraperitonealer Impfung von 0,1–1,0 ccm frischer Bouillonkultur nach 1–8 Tagen oder sie überleben; ebenso sterben Meerschweinchen und Kaninchen bei dieser Infektionsart bei größeren Mengen ebenfalls an Enteritis oder Peritonitis. Bei subkutaner Einspritzung sind sehr viel größere Mengen Bouillonkultur nötig zur Erzielung einer Allgemeininfektion. Kaninchen bekommen dabei nur Abscesse. Die Pathogenität des *Bacillus coli commune* beruht wie beim *Aërogenes* auf der schädlichen Wirkung giftiger Produkte. Von allen Autoren wird die Abnahme der Virulenz bei fortgesetzter Züchtung und umgekehrt die Steigerung derselben beim Durchgang durch Tiere hervorgehoben. Bei Impfversuchen mit Kulturen von *Bacillus Guillebeau* a ins Euter fanden Guillebeau und Hess (1894), daß die Wirkung kleiner injizierter Kulturmengen weit intensiver war, wenn diese von einer frischen nekrotisierenden Mastitis stammten, als in den Fällen, wo dieselben aus dem Sekrete eines weniger entzündeten Euters gewonnen waren.

Ähnliche Verhältnisse erhielt auch Streit. Ferner zeigten seine Virulenzversuche mit Coli-Bacillen, daß diejenigen aus entzündeten Eutern eine höhere Virulenz besaßen als die gewöhnlichen Coli-Stämme.

Eine sichere Unterscheidung dieser beiden Stäbchen ist bei recht typisch ausgebildeten Individuen nicht schwer. Allein bei der großen Mannigfaltigkeit und Variabilität der botanischen Merkmale, bei den oft fast unmerklich ineinander übergehenden Eigentümlichkeiten dieser beiden Mikroorganismen ist es häufig ein Ding der Unmöglichkeit, gegebene Kulturen mit Sicherheit der einen oder anderen Species zuzuteilen. Weder die morphologischen, noch die biologischen, noch die kulturellen Eigenschaften können mit absoluter Sicherheit als Unterscheidungsmerkmale gelten. Der einzig durchgreifende Unterschied besteht in der Eigentümlichkeit, daß der eine *Bacillus* beweglich, der andere unbeweglich ist; eventuell kann noch die Indolbildung zur Differenzierung beigezogen werden.

Es ist daher leicht erklärlich, daß einzelnen Bakterienfunden bei Mastitis verschiedene Namen beigelegt wurden, daß Verwechslungen vorkamen, bis in neuerer Zeit dieser Wirrwarr von Namen durch eingehende Untersuchungen von Streit und Jensen aufgeklärt wurde. So äußerte sich Jensen dahin, daß *Bacterium phlegmasiae uberis* (Kitt) und die Bacillen Guillebeaus mit *Bacterium coli commune* identisch seien. Streit gibt an, daß die häufigsten Bacillen der Euterentzündungen in die große Gruppe der Coli-Bakterien gehören. Sie finden sich in den verschiedenen Varietäten vor, die dieser Gruppe eigen sind. Die größte Zahl besteht aber aus typischen Coli-Stämmen, andere stellen Zwischenformen von diesen zu der Gruppe des *Bacillus aërogenes* dar. Den *Bacillus Guillebeau* erklärt er als reinen Coli-Stamm.

Gestützt auf diese Mitteilungen habe ich in meinen Fällen die Bezeichnung „Colibacillen“ resp. „*Bacillus aërogenes*“ für die passende gehalten. 12mal habe ich Coli-Bacillen, 1mal den *Bacillus aërogenes* und 1mal eine bewegliche Zwischenform gefunden. Der *Bacillus aërogenes* war sicher unbeweglich ohne Indolbildung; sein Wachstum in Gelatine und auf Kartoffeln war nicht charakteristisch, aber es fiel zu ihrer Unterscheidung mir in beiden Fällen die weniger starke Trübung der Bouillon und der homogenere Bodensatz in derselben auf. Das erste Mal bildete sich auch ein weißes Häutchen auf der Flüssigkeit. In Gelatineplatten wuchs der *Bacillus aërogenes* zu bräunlichen, runden Kolonien heran, die in der Tiefe einen Durchmesser von ca. 1 mm, an der Oberfläche einen solchen von 2—3 mm besaßen. Die oberflächlichen waren prominent, hatten ein gelbes Zentrum und eine weiße Peripherie; Milch wurde jedesmal rasch durch Säuerung zur Koagulation gebracht und der Niederschlag stark zerklüftet.

Im Gegensatz zum *Bacillus aërogenes* war der *Bacillus coli commune* ein gut bewegliches Stäbchen mit mehr oder weniger starker Indolbildung; 2mal fehlte diese ganz. In gewöhnlicher Bouillon war in 24 Stunden stets eine starke, diffuse Trübung aufgetreten und ein dicker Bodensatz bedeckte den Boden des Röhrchens. Im Gelatinestich zeigten sie sowohl im Stich als an der Oberfläche ein gutes Wachstum; der Nagel war flach, rund oder gebuchtet, nur 2mal entstand eine typische weinblattartige Ausbreitung des Nagels. Milch kam immer unter Säurebildung zur Gerinnung. Auf Kartoffeln wuchs der *Bacillus* in Form eines gelblichweißen bis hellbraunen, dicken, feuchten Ueberzuges. In den Gelatineplatten war für die Größe der Kolonien ihre gegenseitige Entfernung von großem Einfluß; die tiefen waren kleiner als die oberflächlichen. Letztere wuchsen entweder zu runden, erhabenen, glänzend weißen Kolonien heran oder sie breiteten sich zu flachen, mehr oder weniger gebuchteten Ueberzügen aus. Auch hier war die Weinblattform selten zu sehen.

Eine bewegliche Zwischenform von der Gruppe der typischen Coli-Bakterien zu derjenigen des *Bacillus aërogenes* glaube ich in Fall No. 5 gefunden zu haben. Das Stäbchen zeigt die größte Uebereinstimmung mit dem *Bacillus aërogenes*, ist aber schwach beweglich.

In allen Fällen mit Stäbchen als Erreger der Euterentzündung mußte diese als schwer bezeichnet und die Prognose vorsichtig gestellt werden; immerhin sind einige dieser Mastitiden in Heilung übergegangen, wie wir es in einem besonderen Abschnitte noch näher ausführen werden.

E. Mischinfektionen.

Fall No. 1 Kuh.

Symptome: Die Kuh erkrankte vor 1 Jahre an schwerer Mastitis parenchymatosa des rechten vorderen Viertels, worauf die Sekretion an diesem Viertel zurückblieb. Vor 2 Tagen kalbte die Kuh; der Besitzer hoffte auf Wiederkehr der Sekretion, allein eine

Entzündung des betreffenden Viertels war die Folge. Das rechte vordere Viertel wurde größer als die anderen und zeigte leichtgradige Entzündungserscheinungen; in der Tiefe war es derb, in der Umgebung der Cisterne waren erbsen- bis haselnußgroße, harte, nicht verschiebbare Knoten von rundlicher Form und glatter Oberfläche. Die Menge des Sekrets beträgt 50 ccm; es ist ein gelbbraunliches Serum mit gelben Flocken. Die gesunden Viertel liefern Biestmilch.

Klinische Diagnose: Chronische Fremdkörper — Galaktophoritis.

Ausgang: Induration bleibt weiter bestehen.

In den Gelatineplatten wachsen 2 Arten von Mikroorganismen. Die einen sind in 3 Tagen als gelblichweiße, runde, ganzrandige Kolonien gut sichtbar, während die anderen, welche viel zahlreicher sind, ganz kleine hellgraue Pünktchen darstellen. Die ersten erwiesen sich als Kokken, die zweiten als Kettenkokken.

a) Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, sandiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in Haufen, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Vom 2. Tage an trichterförmige Verflüssigung der Gelatine.

Kartoffeln: Grauweißer, glänzender Ueberzug mittlerer Dicke.

Milch: Nach 24 Stunden fest geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Staphylococcus mastitidis*.

b) Wachstum der Kettenkokken in Bouillon:

Makroskopisch: Leichte Trübung, wenig sandiger, feiner Bodensatz.

Mikroskopisch: 4—15-gliedrige Ketten von 1 μ großen Kokken, die nach Gram färbbar sind.

Gelatinestich: Mäßiges Wachstum, weißer, nicht zusammenhängender Stich, kein Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Auf einer Kartoffel kein Wachstum, auf der anderen ein dünner, weißer Belag von Kokken und Ketten. Von beiden Kartoffeln wird mit der Platinöse eine Spur von der Oberfläche in Bouillon übertragen, worin wieder Ketten wachsen.

Milch: Gerinnt in 24—30 Stunden, ist stark sauer und enthält Kokken und vielgliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Streptococcus mastitidis sporadicae*.

Es handelt sich in diesem Falle um eine Mischinfektion mit *Staphylococcus mastitidis* und *Streptococcus mastitis sporadicae*.

Fall No. 2 Kuh.

Symptome: In das linke hintere Viertel dieser Kuh wurden seit 1½ Monaten Taubenfedern und Melkröhrchen eingeführt. Heute bestehen die Erscheinungen einer Mastitis parenchymatosa mittleren Grades. Das Viertel ist mäßig geschwollen, derb, vermehrt warm und empfindlich, die Haut über dem Viertel ist noch gut verschiebbar. Es ist sehr schwer, aus diesem Viertel Sekret herauszuziehen; dasselbe ist ein gelbes klares Serum mit grauweißen Flocken.

Klinische Diagnose: Chronische Galaktophoritis durch Fremdkörper.

Im Sekret findet man Kokken, die in den Gelatineplatten als kleine und größere Kolonien wachsen; die kleinen Kolonien sind viel zahlreicher als die großen.

a) Wachstum der großen Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, wolkiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in Haufen und selten in 3—4-gliedrigen Ketten von 1 μ Größe, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, von der Oberfläche aus trichterförmige Verflüssigung.

Kartoffeln: Grauweißer, feuchter, glänzender, dicker Belag.

Milch: Geronnen, sauer, enthält Kokken und wenige, höchstens 5-gliedrige Ketten.

Bakteriologische Diagnose: *Staphylococcus mastitidis*.

b) Wachstum der kleinen Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache Trübung, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: 0,75 μ messende, nach Gram färbbare Kokken.

Gelatinestich: Schwaches Wachstum, kein deutlicher Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Grauweißer, dünner Belag von kleinen Kokken.

Milch: Nach 3 Tagen geronnen, Ausscheidung von Molke, sehr sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Es liegt in diesem Falle eine Mischinfektion mit *Staphylococcus mastitidis* und *Galactococcus fulvus* vor.

Nach 5 Wochen wurde das auf einige Kubikcentimeter reduzierte Sekret wieder mikroskopisch untersucht, als das Viertel bereits von einer neuen viel heftigeren Entzündung ergriffen war. In dem gelben Serum befanden sich nach Gram nicht färbbare und färbbare Stäbchen. In den Platten wuchs trotzdem nur eine Art von Mikroorganismen.

Wachstum in Bouillon:

Makroskopisch: Diffuse starke Trübung, grauer Bodensatz.

Mikroskopisch: Nach Gram nicht färbbare Stäbchen von 2 μ Länge.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, flacher, runder Nagel, keine Verflüssigung, Gasbildung.

Kartoffeln: Dicker, hellbrauner bis gelblicher Ueberzug.

Milch: Rasch geronnen, sehr sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Coli-Bacillen*. Die nach Gram färbbaren Stäbchen waren wohl anaërob und müssen als *Bacillus necrophorus* aufgefaßt werden.

Der Ausgang dieser Mastitis war die Atrophie mit Absceßbildung; nach 8 Wochen war das Viertel ganz klein und enthielt teils peripher, teils in der Tiefe gelegene nuß- bis gänseeigroße, harte, unbewegliche, unschmerzhaft, oft höckerige Knoten. Die einen zeigten schon leichte Fluktuation, während andere noch ganz hart waren. Diese peripheren Abscesse durchbrachen die Haut und entleerten dann einen gelblichen, stinkenden, dicken Eiter; solchen Eiter konnte man oft ausmelken, er mußte von tiefen, geplatzten Abscessen stammen. Die gesamte Milchmenge der anderen 3 Viertel betrug später wieder 5—6 l pro Melkzeit.

In diesem Falle ist die Frage berechtigt, ob der *Coli-Bacillus* und der *Bacillus necrophorus* bei der ersten Sekretentnahme schon im Euter gewesen waren oder ob sie erst später hineingekommen sind. Ich bin der Ansicht, daß die Infektion mit diesen beiden Parasiten erst später stattgefunden hat, und zwar aus folgenden Gründen: Wären sie das erste Mal darin gewesen, so hätten sie sich so rasch vermehrt, daß man sie schon mikroskopisch und den *Coli-Bacillus* auch durch das Kulturverfahren, wenn auch in geringer Anzahl, hätte finden müssen. Ferner war die Entzündung des Viertels beim ersten Besuch eine so mäßige, daß der *Coli-* und *Nekrosebacillus* als Infektionserreger ausgeschlossen werden konnten, da doch alle durch sie erzeugten Mastitiden

stets plötzlich mit Heftigkeit einzutreten pflegen; die Entzündung des Viertels wurde aber erst später eine schwere, so daß ich geneigt bin, die Infektion mit Coli- und Nekrosebacillen als sekundär zu betrachten und in ein späteres Stadium zu verlegen, wo das Viertel durch die primäre Infektion bereits seine Widerstandsfähigkeit eingebüßt hatte und der Invasion, sei sie hämatogen oder galaktogen, nicht mehr zu widerstehen vermochte.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

A note on the occurrence of a Trypanosome in the rabbit.

By G. F. Petrie, M. D.,

Assistant-Bacteriologist, Serum Department, Lister Institute Preventive Medicine, London.

As there seems to be only a passing reference to the occurrence of trypanosomes in the rabbit by one or two writers (e. g., Nocard and Leclainche), who do not, however, quote the original authorities, and since there exists no account of these parasites, at least in the recent literature, the following brief notes may be recorded.

In May of last year it was accidentally discovered that the blood of a rabbit, which was being examined, was swarming with trypanosomes. The parasites were quite as numerous as in any natural rat infection.

In January of this year two other rabbits were found to contain trypanosomes in the blood in large numbers. Two of the animals were females. The young of one of them were examined shortly after birth but no parasites were found in the blood.

As regards morphology, films of the blood stained by eosine and methylene blue show that the parasite is not essentially difference in structure from that of the rat trypanosome. It seems, however, to be somewhat smaller than the latter. The micronucleus (centrosome) is situated immediately behind the pointed posterior end. It stains uniformly and deeply with eosine or with methylene blue. The macronucleus in some specimens stains irregularly so as to give the appearance of fragmentation. A few chromatic granules are occasionally to be seen in the protoplasm between the flagellum and the macronucleus.

Blood removed aseptically from the ear vein of one of the rabbits was kept in a moist chamber at 37° C in the dark. Twenty four hours later in the clear serum (which had a peculiar opalescent appearance) trypanosomes were seen singly and in rosettes, the flagella in the latter being peripheral and actively motile. The largest group observed consisted of about twelve individuals. On the third day only one trypanosome was seen in a hanging-drop preparation.

Normal horse serum has an agglutinating action on the parasites, being very marked when added in a dilution of one in two, slight in that of one in ten, and absent in one in a hundred. Guinea-pig serum has little or no action in this respect.

In blood kept on ice the motility of the trypanosomes was found at the end of a month to have in no degree diminished.

As regards the duration of the infection I am able to say that in one of my cases the parasites have persisted for ten months. In each case the animal appeared to be healthy.

The condition in my experience by no means frequently occurs. Seventy normal rabbits have been examined with negative results. Attempts have been made to infect other animals but these so far have been unsuccessful. The number of inoculations has been limited owing to the fact that only one rabbit is at present available for the purpose.

The animals injected include:

- 1 rabbit intravenously,
- 2 " intraperitoneally,
- 1 " intraperitoneally and subcutaneously,
- 6 " subcutaneously,
- 1 guinea-pig intraperitoneally,
- 2 " subcutaneously,
- 1 white rat intraperitoneally.

Details concerning some of these may be briefly given.

A full grown rabbit received 2 ccm, trypanosoma blood intraperitoneally — result negative.

A young rabbit received 5 ccm, trypanosoma blood intraperitoneally — result negative.

A young rabbit received 10 ccm, trypanosoma blood intraperitoneally and 8 ccm, subcutaneously.

In the last case a few trypanosomes were found in the blood after 22 hours. Two days later only one was found in a drop of blood. At this time the peritoneal exsudate showed one actively motile trypanosome in a drop removed by a capillary tube. On the third day the number in the blood was considerably greater, three in the field of the $\frac{1}{12}$ " oil immersion being the largest number noted. On the fourth day rather fewer were to be seen. On the fifth day the animal was dead. No symptoms were observed before death. It was found post mortem that there was no peritonitis, although the peritoneal cavity contained a good deal of blood-stained exsudate, and some unabsorbed blood clots. The spleen was not enlarged; the intestines were not congested. The brain was anaemic with no excess of cerebro-spinal fluid. The blood, bonemarrow and spleen were examined but no trypanosomes nor developmental forms were found. As several cases of rabbit septicaemia occurred about this time in the stock, cultures were made from this animal but no septicaemic organisms could be cultivated from the heart blood.

The original trypanosoma rabbit was bled from the jugular vein; 20 ccm, were thus removed. 2 ccm, were injected subcutaneously into each of 6 rabbits. All except one lost weight. One died on the 12th day, another on the 15th day, and a third on the 21st day after the injection. Post mortem examination of three rabbits failed to account for the cause of death. The organs seemed to be healthy with the exception of a slight coccidiosis of the liver in two of the animals. Cultures from the heart blood proved to be negative. In the others no trypanosomes have been found in observations extending over five weeks.

In the original rabbit, at the time of bleeding, a fair number of parasites were present in the blood — on an average 12 in the field of a $\frac{1}{6}$ " lens; seven days later, very few could be found and at the end six weeks the numbers were still low, only one or two being seen in a similar field.

From these experiments it would appear that an artificial infection is not easily produced, a point of considerable interest as it suggests

that an intermediate developmental stage may take place outside the body of the rabbit. One of the original rabbits was examined very carefully for pediculi and fleas but none were found. Again, the above experiments seem to indicate that trypanosoma blood is toxic to certain uninfected rabbits. On these points, it would be unsafe to offer any positive opinion at present. I hope, however, to be able to continue the investigation of the parasite and especially of the method of its infection under natural conditions.

Elstree, Herts., England. 22nd October 1903.

Nachdruck verboten.

Die Piroplasmen der Rinder.

[Aus der Anti-Rinderpeststation zu Surnabad in Transkaukasien.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **E. Dschunkowsky** und **J. Luhs**.

Mit 3 Tafeln.

Die unter verschiedenen Benennungen bekannten Piroplasmen der Rinder, wie Texasfieber, Blutharnen, Hämoglobinurie, Malaria der Rinder, Rhodesiafieber (R. Koch) u. s. w., werden von vielen Autoren für eine Krankheit gehalten, die durch ein und denselben Parasiten hervorgerufen wird. Jedoch haben Lignières und in allerneuester Zeit R. Koch, Edington, Gray, Robertson, Pitchford und Theiler sich dahin ausgesprochen, daß zwischen den Piroplasmen von Südafrika (z. B. Rhodesia-fever) und dem Texasfieber ein Unterschied besteht.

Die in Rußland beobachteten Piroplasmen lassen sich in 3 Formen einteilen:

- I. Die Piroplasmose des nördlichen Rußlands,
- II. Die Piroplasmose von Ciskaukasien,
- III. Die Piroplasmose von Transkaukasien.

Die letztere halten wir für eine besondere Form, welche der Menschenmalaria, besonders dem Tropenfieber, in mancher Beziehung ähnlich ist, und benennen dieselbe „Tropische Form der Piroplasmose“ oder „Tropische Piroplasmose“ der Rinder. Wir unterscheiden ferner eine akute und eine kachektische Form derselben.

Das klinische Bild der Piroplasmose des nördlichen Rußland verläuft in der größten Mehrzahl der Fälle mit Ausscheidung von blutigem Harn, wobei ein stark ausgeprägter Ikterus fehlt. Desgleichen ist Blutharnen ein beständiger Begleiter der Piroplasmose des nördlichen Kaukasus, und es fehlt auch nicht eine ikterische Färbung der Schleimhäute in den verschiedensten Abstufungen.

Bei der tropischen Form der Piroplasmose haben wir im allgemeinen folgendes Krankheitsbild konstatiert: An mehrere vorausgehende Temperaturerhöhungen, welche 40—41° C erreichen und in Abständen von 8—12 Tagen aufeinanderfolgen, schließt sich andauerndes hohes Fieber mit einer Temperatur von 41—42° C an. Weitere Kennzeichen sind: Zittern einzelner Muskelgruppen, besonders an Schultern, Hinterextremitäten und Weichen, zuweilen treten schwere Gehirnstörungen auf, in

welchen Fällen sich die Tiere sogar nach wildem Augenrollen auf die Menschen stürzen. Die Respiration ist beschleunigt, bis 30—36 in der Minute, der Puls ist frequent, bis 120 in der Minute, fadenförmig, kaum fühlbar.

Der Harn ist gewöhnlich klar, nur in seltenen Fällen rötlichgelb gefärbt. Oft wird Diarrhöe beobachtet, die bald einen blutigen Charakter annimmt. Es tritt Paralyse des Sphincter ani ein. In anderen Fällen dagegen herrscht hartnäckige Verstopfung. Den Tod, der unter starken Konvulsionen einzutreten pflegt, erwartet das Tier liegend, den Kopf an eine Seite des Körpers gelehnt. Selbst nach wiederholtem, gewaltsamen Geradestrecken des Halses, kehrt er immer wieder in seine gebeugte Lage zurück.

Bei der kachektischen Form erreicht die Temperatur anfangs 41° C, um bald darauf auf 39,7—39,0 und im Laufe der Zeit auf die Norm, auf welcher sie sich bis zum Tode hält, herabzusinken.

Das Krankheitsbild ist durch allgemeinen intensiven Ikterus sowie allmählicher Abmagerung charakterisiert. Die Zahl der roten Blutkörperchen fällt bedeutend, in manchen Fällen bis auf 800000 pro Kubikmillimeter¹⁾. Die Piroplasmen des nördlichen Rußland sowie des nördlichen Kaukasus, zeigen dieselben pathologisch-anatomischen Veränderungen. Sie bestehen hauptsächlich in einer Vergrößerung der parenchymatösen Organe und teilweise im Auftreten von Extravasaten in denselben. Bei der ciskaukasischen Form bildet den Unterschied vor allem die stark ausgeprägte, intensive ikterische Färbung.

Die tropische Form ist charakterisiert durch umfassende Hämorrhagien in allen Organen des Körpers. Diese erscheinen auf der Conjunctiva des Auges, auf der Schleimhaut der Lippen und der Zunge, in der Trachea, in den Bronchien, in den Verdauungsorganen, auf den serösen Häuten, auf der Pleura costalis, dem Pericardium, Epicardium, Endocardium, Peritoneum, in der Haut, dem subkutanen Bindegewebe, in der Leber, den Nieren, der Milz, im Gehirn, im Knochenmark, in der Gallen- und Harnblase etc. Ganz besonders auffallend und charakteristisch für die tropische Piroplasmose sind die Veränderungen im Labmagen und im Dünndarm, bei welchen man sehr oft Geschwüre, welche an Stelle der Hämorrhagien stehen, beobachten kann. Sie haben eine runde Form, einen dunklen Grund und sind von einem grellroten, mehr oder weniger prominierenden Wall umgeben. Mit der Zeit verlieren sie ihre Färbung, ihr Grund wird gelblich und der sie umgebende Wall dunkelbraun. Bisweilen hebt das unter Druck aus den Capillaren heraustretende Blut die obere Schicht der Schleimhaut empor und es entsteht eine Art Knoten von dunkelroter bis zuweilen schwarzer Färbung. Mitunter fließen mehrere dieser Knoten ineinander oder sitzen so dicht beieinander, daß die Labmagenschleimhaut wie mit schwarzen Pfefferkörnern besät aussieht. Obengenannte Geschwüre entstehen durch allmähliches Absterben der die Knoten überziehenden Schleimhautschicht.

In kachektischen Fällen beobachtet man im Labmagen, besonders an der Pförtnerhöhle, an den äußeren Rändern der Falten, flache Schleimhautdefekte in Gestalt von Streifen, Leisten und länglichen Flächen mit ocker-gelbem oder dunklem, bisweilen auch blaßgelbem Grunde. Sie haben viel Aehnlichkeit mit bräunlichen Krusten, wie sie durch energisches Brennen mit glühendem Eisen auf pigmentloser Haut entstehen.

1) Bemerkenswerte Veränderungen der morphologischen Zusammensetzung des Blutes werden später beschrieben werden.

Die parenchymatösen Organe sind stark vergrößert. Die Leber meistens lehmfarbig, die Galle orange gelb mit rötlichen Flocken, von der Konsistenz eines dicken Breies, sehr ähnlich einer dicken Tomatensauce. Die Milz ist stark (2—3mal) vergrößert, die Pulpa derselben zerfließend. Die Nieren jedoch zeigen außer den Hämorrhagien in der Kapsel und im Parenchym keine Veränderungen. In der Harnblase findet man klaren oder leicht getrübbten Harn. Das subkutane und Zwischenmuskelbindegewebe ist besonders in der Gegend der Schulterblätter durchtränkt von einem gelblichen, gallertartigen Infiltrat. Dasselbe kann man um das Duodenum herum und am Grunde der Gallenblase beobachten. In der Trachea und in den Bronchien findet man zuweilen eine reichliche Quantität einer blutig-schaumigen Flüssigkeit. Die Lungen sind oft emphysematös.

Neben dem eben beschriebenen pathologischen Bilde haben wir auch, besonders bei Rindern, welche aus verschiedenen Gegenden des nördlichen Kaukasus nach Transkaukasien gebracht wurden, Mischformen beobachtet. In solchen Fällen fanden wir im Blute sowohl große typische *Piroplasma bigem.* als auch die kleinen Parasiten unserer tropischen Form.

Betreffend die Differentialdiagnose müssen wir hier die Aehnlichkeit der verschiedenen Formen der Piroplasmosen mit dem Anthrax und der Rinderpest konstatieren.

In ätiologischer Hinsicht ist die Piroplasmose des nördlichen Rußlands charakterisiert durch das Auftreten der typischen Birnen des *Piroplasma bigeminum* im Blute, ebenso werden die Erkrankungen in der Ciskaukasien durch eine nahestehende Abart desselben Parasiten hervorgerufen. Der Unterschied besteht nur in der bedeutenderen Größe des letzteren.

Bei der tropischen Piroplasmose haben wir 3 Formen des Parasiten beobachtet:

- 1) die Bacillenform,
- 2) die Ringform,
- 3) die Punktform.

Die akute tropische Piroplasmose wird durch die beiden erstgenannten Formen erzeugt, die Kachexie aber durch die punktförmigen Parasiten. In der erstgenannten Form erreichen die Bacillen eine Länge von 2—4 μ und wurden wiederum in 3 Formen beobachtet: a) als Stäbchen von gleichmäßiger Dicke mit abgerundeten Enden, b) als Stäbchen mit kolbigen Enden, zuweilen auch noch mit einer Verdickung in der Mitte, c) als dünne ($1\frac{1}{2}$ μ dicke), kommaförmige, geradegestreckte, an einem Ende zugespitzte Gebilde, die oft mit den dünnen Enden zusammenhängen.

Die beiden ersten Formen der Bacillen (betrachtet im gefärbten Präparat) bestehen aus Chromatin mit einem Protoplasmaklumpchen in der Mitte. Dagegen scheinen die kommaförmigen anfangs ganz aus Chromatin zu bestehen; jedoch mit ihrem Größerwerden bemerkt man in ihrer Mitte ebenfalls Protoplasma. Im hängenden Bluttröpfchen beobachtet, erscheinen die Bacillen im Blutkörperchen als stark lichtbrechende Gebilde, welche eine ausgeprägte amöboide Beweglichkeit zeigen, und zwar um ihre Längsachse, sowie eine fortschreitende. Mitunter überwerfen sie sich auch im Blutkörperchen und nehmen durch Krümmungen die verschiedensten Stellungen an.

Diese 3 Formen der Bacillen sind sehr veränderlicher Natur und

können vermöge ihrer Kontraktilität die verschiedensten Formen annehmen.

Die ringförmigen Parasiten haben entweder die ausgesprochene Form eines Ringes oder Kreises oder sind leicht oval und kommen der Form eines Eies sehr nahe, denn sie haben, wie dieses, einen breiteren und einen schmäleren Pol, gleich der Bacillenform haben sie eine amöboide Eigenbewegung, sowohl um sich selbst als auch ortsverändernd; im hängenden Bluttröpfchen erscheinen sie als runde und — wie die Bacillenform — stark lichtbrechende Gebilde. Betreffend die Entwicklung der ringförmigen Parasiten, nehmen wir an, daß dieselben aus den bacillenförmigen entstehen, wobei der Verlauf der Umwandlung folgender ist: Die Bacillen, die ursprünglich in ihrer ganzen Längsachse gleich dick waren, erhalten eine Hantelform, indem sich das Chromatin nach den Enden hin zusammenzieht, die Mitte aber infolgedessen dünn wird.

Zuweilen aber, bei sehr gleichmäßiger Bildung dieser Form, hängen die sich neubildenden Parasiten wie zwei Kommata aneinander.

Wie schon erwähnt, können nun die betreffenden Parasiten infolge ihrer amöboiden Beweglichkeit in den verschiedensten Winkeln zueinander stehen und sich nach einiger Zeit voneinander lösen¹⁾. In den entstehenden und eben entstandenen Bacillen ist Protoplasma nicht bemerkbar, allem Anscheine nach bestehen sie ganz aus Chromatin.

Das Verhältnis der Länge zur Dicke der Bacillen ist in diesem Stadium wie 3:1; bald jedoch verändert sich dasselbe, indem die Bacillen in ihrer Längsachse zusammenschrumpfen und breiter werden, wobei das spitze Ende ganz verschwindet, und es entstehen schließlich Gebilde von ganz regelmäßiger, runder, ovaler Form, letztere mit einem breiteren und schmäleren Pol von $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{6}$ Blutkörperchendurchmesser.

In den Präparaten, die nach der Methode von Giemsa gefärbt sind, erscheinen dieselben an der Peripherie stärker blau gefärbt, als in der Mitte. An einer Stelle der Peripherie der ringförmigen Parasiten befindet sich das Chromatin in Form eines begrenzten, runden oder ovalen, karminroten bis rotvioletten Körnchens, oder stellt gleichsam eine sichelförmige Anschwellung einer Stelle der Peripherie dar. Die Form des Chromatins in den ovalen Parasiten ist die gleiche und liegt dasselbe bei diesem am breiteren Pol, wobei man zuweilen ein um die Hälfte oder noch kleineres Chromatinkörnchen am schmäleren Pol beobachten kann. Ueberhaupt liegt das Chromatin bei beiden, beim ringförmigen sowie ovalen Parasiten an besagten Stellen entweder der Peripherie von innen an oder auf derselben, so daß sich eine Hälfte innerhalb, die andere außerhalb derselben befindet. Hat es hierbei noch eine ovale Gestalt, so haben wir eine deutliche Siegelringform der Parasiten, wie bei der Menschenmalaria, vor uns, und zwar erinnern solche Parasiten lebhaft an die kleinen Tropenringe.

Bei der Kachexie der tropischen Piroplasmose haben wir die Parasiten fast immer in Form von runden oder leicht ovalen Punkten, welche aus kompaktem Chromatin bestehen, beobachtet. Das Protoplasma konnte bei ihnen vorläufig nicht nachgewiesen werden. Sehr oft scheint ein solcher punktförmiger Parasit aus zwei gleichen, sehr nahe beieinander liegenden Hälften zu bestehen in Gestalt eines Diplococcus. Die

1) Nicht selten beobachtet man hierbei im Blutplasma Teilungsformen, bei welchen die ringförmig werdenden Parasiten eine sich lebhaft bewegende Perlschnur darstellen, indem sie, in verschiedener Größe, zu 3—5 an einem dünnen, eben noch sichtbaren Faden zusammenhängen, bis sie sich nach einiger Zeit voneinander lösen.

feine Spalte zwischen beiden Hälften war nur bemerkbar bei schwacher Färbung des Präparates, wogegen sie bei intensiver Färbung immer verschwand. Ferner wurde mitunter in manchen Punkten eine kleine, nicht gefärbte Stelle wahrgenommen. Im hängenden Blutstropfen betrachtet, erscheinen die Parasiten als stark lichtbrechende, runde Körnchen, jedoch ohne Eigenbewegung. Sie scheinen eine resistenter Form des Parasiten darzustellen.

Die Zahl der Parasiten im Blute von an der tropischen Piroplasmose erkrankten Rindern ist sehr verschieden. In akuten Fällen dieser Krankheit können 90—96 Proz. aller Erythrocyten mit Parasiten besetzt sein, wobei sie zu 5—8 in einem jeden derselben sitzen und ihn ganz ausfüllen. Bemerkenswert ist es, daß derartige Erythrocyten sich nicht vergrößern und ihren Farbstoff nicht verlieren. Ebenso kann man bei ihnen keine Tüpfelung wahrnehmen, wie bei den Tertian- und Tropicaparasiten des Menschen.

Bei der Kachexie der tropischen Piroplasmose sind 10—40 Proz. aller Erythrocyten mit Parasiten besetzt, zu 1—3 in jedem.

Betrachtet man die Parasiten im hängenden frischen Blutstropfen auf heizbarem Objektisch, so sieht man, daß sie vermöge ihrer amöboiden Beweglichkeit aus den Erythrocyten in das Plasma heraustreten. Nach einigen Stunden verändern sich die Konturen, das Protoplasma nimmt bald eine verschiedenartige Form an, zuweilen die eines Zipfels, welcher dann an einer Seite des runden Chromatinkörperchens anliegt, und noch später die eines undeutlichen Saumes, welcher schwer die blaue Färbung annimmt.

Nach 10—15 Tagen beginnt die Teilung des Chromatins, gewöhnlich in zwei Teile, kann aber auch wahrscheinlich in mehrere kleine Körnchen zerfallen, welche sich vergrößern und dann wieder teilen. Die Teilung der Parasiten und ihr Wachstum vollzieht sich sehr erfolgreich in gelöstes Hämoglobin enthaltendem Blutserum kranker Tiere. Auf diese Weise erhält man eine Art Kultur. Die Flüssigkeit ist, im Probierglas betrachtet, ganz durchsichtig, nur auf dem Boden bemerkt man einen Niederschlag von grauer Farbe. Um gleichmäßige Verteilung dieses Bodensatzes zu erzielen, muß man das Probiergläschen stark und anhaltend schütteln. Bei fortgesetztem Umkultivieren der Parasiten zeigen sie nach 10—20 Tagen eine starke Vermehrung. In den roten Blutkörperchen und im Plasma von defibriniertem Blut, welches 20—25 Tage bei Zimmertemperatur und im Thermostaten bei 38° C gehalten wurde, und ebenso in den Kulturen zeigt der Parasit eine deutliche Eigenbewegung.

Am besten und deutlichsten von allen Methoden färben sich die Parasiten der tropischen Piroplasmose nach der von Giemsa; den Reuterschen Farbstoff nehmen sie, im Gegensatz zu den Parasiten der anderen Piroplasmosen, gar nicht an. Die nach der Giemsa'schen Methode gefärbten Parasiten zeigen, wie schon oben teilweise hingewiesen, folgendes Bild: Die Bacillen, besonders die dünnen, kommaförmigen, färben sich in ihrem Jugendstadium glänzend karminrot bis glänzend violett. Mit ihrem Wachstum tritt in der Mitte der Bacillen Protoplasma auf, welches sich schwach hellblau färbt. Bei den ringförmigen Parasiten färbt sich das Chromatin ebenfalls schön glänzend karminrot bis glänzend rotviolett, das Protoplasma aber blaß bläulich, wobei die scharfen Konturen des Parasiten intensiver blau gefärbt sind als die Mitte, so daß ein Ring entsteht, dem an einer oder zwei Stellen

das Chromatin aufsitzt. Eine achromatische Zone zwischen Chromatin und Protoplasma konnten wir nicht beobachten.

Die punktförmigen Parasiten der Kachexie der tropischen Piroplasmose färben sich sehr intensiv glänzend bis himbeerrot, und wenn das Präparat längere Zeit in der Farbflüssigkeit liegt, so werden sie dunkelviolett.

In den Kulturen scheinen die vielartig gestalteten Parasiten aus mehr lockerem Chromatin zu bestehen und färben sich infolgedessen nicht so schnell und intensiv rot, sondern haben einen Stich ins Violette, wobei sie, von einem blaßrosaroten oder schwach blauen Saume umgeben sind, welcher als Protoplasma anzusprechen wäre.

In den Kulturen ist die Form des Chromatinkörnchens keine bestimmte, bald sind sie klein und rund mit scharfen Konturen, bald größer, vieleckig und mit undeutlichem Saum.

Eine Infektion von gesunden Rindern mit Blut, welches den beschriebenen Parasiten in großer Menge enthielt, ist uns in keinem einzigen Falle gelungen, obgleich wir viele Versuche anstellten und das virulente Blut den Versuchstieren subkutan, intravenös und intraperitoneal in Quantitäten von mehreren Litern einführten. Negative Resultate erzielten wir durch Blutinjektion auch bei Kaninchen, Meerschweinchen, Mäusen, Tauben und Ziegen. Ferner haben wir beobachtet, daß im Blute allem Anscheine nach ganz gesunder Tiere punktförmige und ringförmige Parasiten, wenn auch nur in geringer Anzahl, vorhanden sind. Unterzieht man solche Tiere einer Infektion mit Rinderpest, so erkranken sie gleichzeitig an Rinderpest und Piroplasmose.

Mit dieser Erscheinung hat man bei der Anwendung der Kombinationsmethode bei den Rinderpestimpfungen in Transkaukasien zu rechnen, besonders in den Niederungen, wo die Piroplasmen vorkommen. Außerdem haben wir auf der Station verschiedene Fälle beobachtet, wo bei hochimmunen Tieren nach bedeutenderen Blutentnahmen die Temperatur sich steigerte und die tropische Piroplasmose mit tödlichem Ausgange sich einstellte. Wir nehmen an, daß bei Tieren, welche in ihrem Blute die Krankheitskeime tragen, alle Momente, welche den Organismus aus seinem gewöhnlichen Gleichgewicht bringen, eine Verschärfung der Krankheit hervorrufen.

Versuche, die zur Gewinnung eines Heilserums vermittelt Immunsierung der Rinder mit großen Mengen virulenten Blutes angestellt wurden, ergaben nicht die gewünschten Resultate. Das hergestellte Serum zeigte keinen Einfluß auf den Verlauf der Krankheit.

Die Resultate von Schutzimpfungen mit Serum, virulentem Blut und Kulturen werden später publiziert werden.

Was die Rolle der Zecken bei der tropischen Piroplasmose anbelangt, so werden wir an dieser Stelle nur darauf hinweisen, daß Injektionen von Emulsion aus Zecken und deren Larven, welche von kranken Tieren herstammten, bei gesunden Rindern die Krankheit nicht hervorriefen.

Schließlich haben wir Gelegenheit gehabt, uns zu überzeugen, daß auf den Bergweiden (Alpenwiesen) in einer Höhe von 5000 Fuß und höher, wo die Piroplasmose nicht beobachtet wird, auch die Zecken bei den Rindern vollkommen fehlen.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Bacillenförmige, ringförmige und ovale Parasiten der akuten tropischen Piroplasmose der Rinder. Aus dem Blute eines Rindes im Anfangsstadium der Krankheit. Entstehung der kommaförmigen, ovalen und ringförmigen Parasiten.

Fig. 2. Ringförmige und ovale Parasiten der akuten tropischen Piroplasmose der Rinder. Aus dem Blute eines kranken Rindes im letzten Stadium der Krankheit.

Fig. 3. Punktförmige Parasiten der kachektischen tropischen Piroplasmose der Rinder. Aus dem Blute eines Rindes $\frac{1}{2}$ Stunde nach dem Tode.

Fig. 4. Kultur der Parasiten der akuten tropischen Piroplasmose der Rinder auf hämoglobinhaltigem Blutsrum. II. Generation.

Fig. 5. Labmagen mit Geschwüren eines an akuter tropischer Piroplasmose eingegangenen Rindes. Nach der Natur photographiert.

Untersuchungsmethode: Fixierung der trockenen Blutpräparate in Alcoh. absol. + Aether sulfur. ää, Färben nach der Methode von Giemsa. Fig. 1-4 sind nach der Natur gezeichnet mit Zeiss, Apochr. homog. Imm. 2 mm, Komp.-Okul. 12. Vergrößerung etwa 1500.

Nachdruck verboten.

Ueber *Filaria Bankrofti* Cobbold.

[Aus dem zoologischen Institute der Universität in Berlin.]

Von Dr. med. N. Taniguchi in Kumamoto, Japan.

Mit 3 Figuren.

Seit der Entdeckung der *Filaria*-Embryonen im menschlichen Blute und Exkreten, welche zuerst durch Demarquay in Paris im Jahre 1863 in der durch die Punktion entleerten Hydrocelenflüssigkeit eines Patienten gelang, erregten diese Embryonen eines Nematoden große Aufmerksamkeit, und es wurde auch die geschlechtsreife Form dieser Parasiten mit Eifer gesucht. Fast gleichzeitig wurde diese von Lewis in Kalkutta und Bankroft in Australien entdeckt und durch Cobbold als *Filaria Bankrofti* beschrieben. Seit dieser Zeit nun wurden diese Parasiten an verschiedenen Orten gefunden und werden jetzt in tropischen und subtropischen Ländern als ein wichtiger Krankheitserreger betrachtet. Ihre geographische Verbreitung erstreckt sich sowohl auf die neue als auch auf die alte Welt, und es leiden viele Tausende von Menschen an dieser Krankheit. Klinische Beobachtungen und pathologische Forschungen wurden in kurzer Frist reichlich geliefert. Besonders gebührt den Arbeiten von Manson und Grassi ein großes Verdienst. Ferner muß man hervorheben, daß Grassi mit seinem Schüler Noè den Infektionsvorgang durch die Mückenstiche durch Versuche bestätigten und die Metamorphose innerhalb des Leibes des Zwischenwirtes biologisch klar dargelegt haben. Dagegen ist die Beschreibung der Tiere selbst noch nicht genügend klar. In einigen Punkten stimmen die Angaben der Autoren nicht vollständig überein oder sind von großer Unwahrscheinlichkeit. Es schien mir daher nicht ganz überflüssig, meine in Japan gefundenen Wurmpräparate hier etwas näher zu schildern. Dieselben bestehen aus 4 Exemplaren der geschlechtsreifen Filarien, welche bei der Operation verschiedener Kranker gefunden wurden. Leider waren sie meistens beim Herauspräparieren stark verletzt und nur ein einziges Exemplar ist vollständig ganz geblieben.

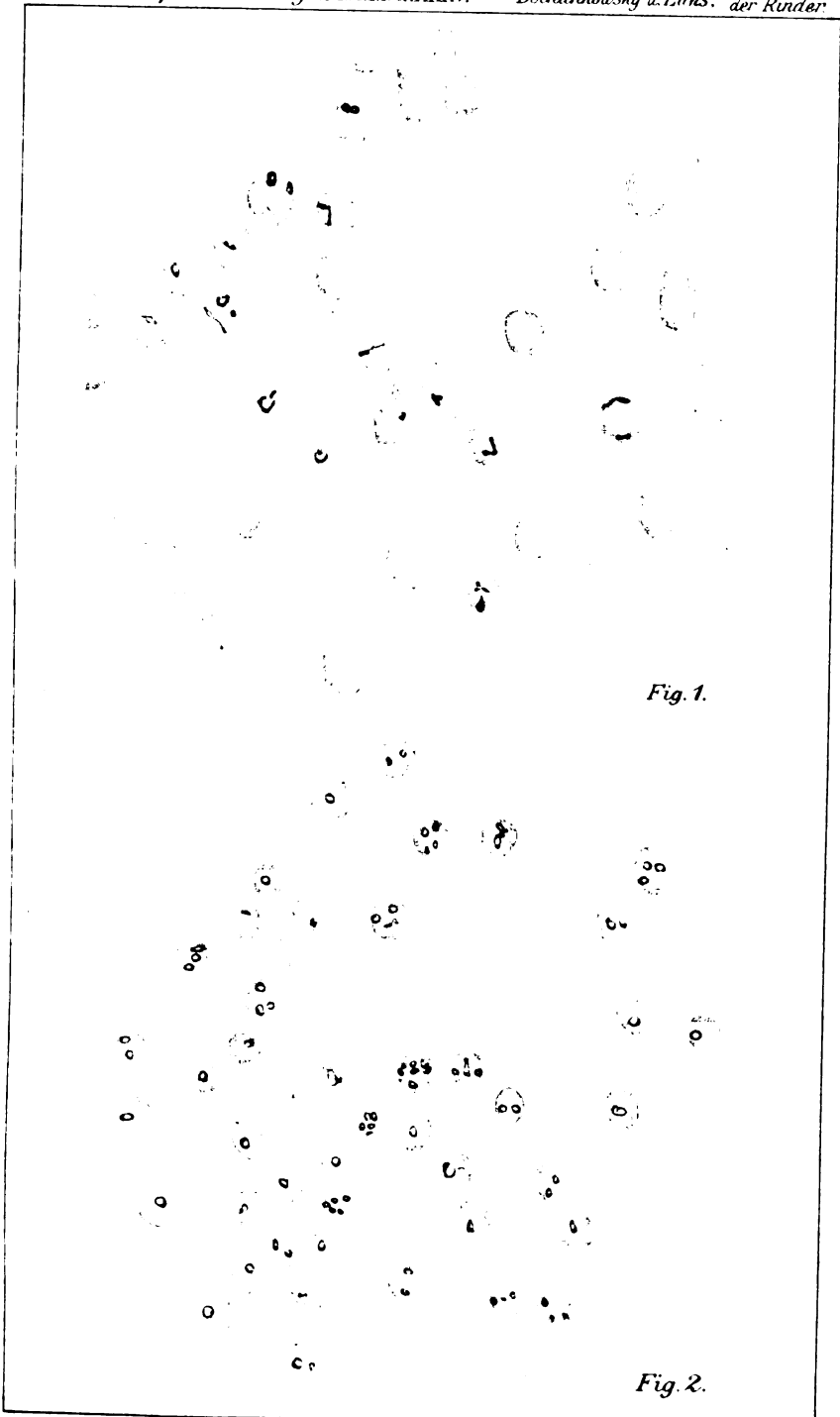


Fig. 1.

Fig. 2.

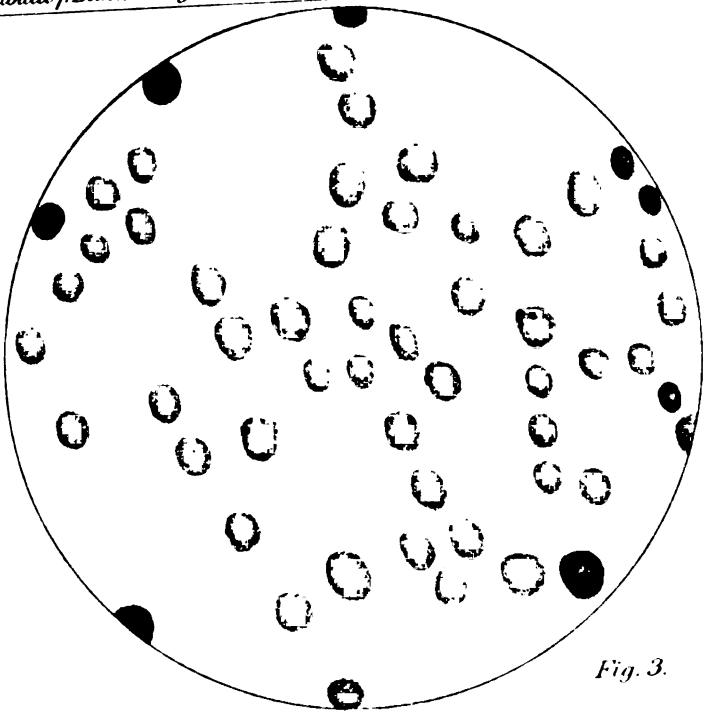


Fig. 3.

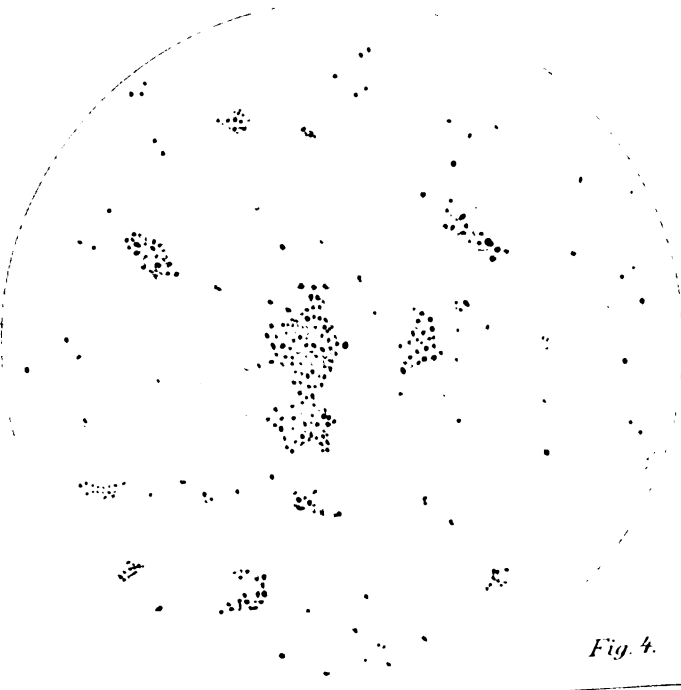


Fig. 4.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

I. Exemplar No. 1 ist ein gut erhaltenes Weibchen eines Fadenwurmes und wurde im Jahre 1901 von Dr. Ikeda in der chirurgischen Abteilung unseres Krankenhauses in Kumamoto bei der Operation eines Patienten gefunden. Die Krankheitsgeschichte lautet, wie folgt:

Ein mitteljähriger, kräftiger Bauer war bis jetzt außer seiner betreffenden Krankheit ganz gesund. Er hatte schon seit seiner Jugendzeit jährlich öfters auftretende Schüttelfrostanfalle. Nach seiner Angabe traten sie meistens nach starker körperlicher Anstrengung auf und verursachten unter heftigem Schüttelfroste und Fiebersteigerung eine erysipelatöse Entzündung in den rechten Inguinaldrüsen und der umgebenden Haut, welche nach Ablauf von 2—4 Tagen heilte. Nach mehrmaligen Wiederholungen solcher Prozesse entstanden allmählich Anschwellungen derselben Inguinaldrüsen und zirkumskripte elephantiasische Verdickung der umgebenden Haut. Er hatte außerdem noch anfallsweise eintretende Hämatochylurie, welche jetzt aber ganz geheilt ist. Der Patient ist kräftig gebaut und gut ernährt. Die elephantiasische Verdickung in der rechten Inguinalgegend ist kindskopfgroß und elastisch weich. Darunterliegende Lymphdrüsen sind hühnereigröß. Im Blute sind keine *Filaria*-Embryonen nachweisbar. Der Tumor wurde extirpiert und die Hautwunde vernäht. Die Heilung erfolgte per primam. Beim Durchschneiden der herausgenommenen, angeschwollenen Drüsen, welche mit dem elephantiasischen Hautgewebe verwachsen waren, bemerkte man mehrere fadenförmige Würmchen aus der Schnittfläche herausschleichen und man konnte mit der Pinzette mehrere Dutzend leicht herausnehmen, welche alle dem weiblichen Geschlechte zugehörten.

Der Wurm sieht wie ein graues Roßhaar aus, ist an beiden Enden in der Dicke verjüngt, mehrfach geschlängelt und an einem Ende einmal eingerollt. Die Gesamtlänge beträgt 68 mm und die größte Breite 0,2 mm. Das Kopfende stellt eine kugelige Verdickung mit dem Durchmesser von 0,05 mm dar, welche durch den schmäleren Halsteil mit dem allmählich verdickten Leibe verbunden ist. Infolgedessen hat der Kopf und Hals die Form einer Keule. An dem vorderen Ende des Kopfes befindet sich eine kleine Vertiefung, welche den Mund darstellt und von welchem der Oesophagus ausgeht. In der Umgebung des vertieften Mundes befinden sich die in 4 Lappen geteilten, lippenartigen Wülste, und beiderseits stehen 2 Paar ganz kleine, deutliche Papillen. Zähne oder eine derartige Bewaffnung sind nicht sichtbar. Der Hals ist der schmale Teil, welchen man hinter dem Kopfe unterscheiden kann. Er ist 0,04 mm breit, wird aber nach hinten allmählich dicker und geht schließlich ohne besondere Grenze in den Leib über. Hier an der Bauchseite liegt die Geschlechtsöffnung, welche vom Kopfende 1,3 mm entfernt ist und an welcher sich Vagina und sämtliche Geschlechtsapparate anschließen.

Der Leib erreicht im vorderen ersten Drittel seine größte Dicke und beherbergt hier eine Unmenge ausgeschlüpfter Embryonen. Bis zum Schwanzende verjüngt sich dann der Wurm wieder allmählich. Das Schwanzende ist einmal eingerollt, endigt stumpf und ist 0,04 mm breit. Der After befindet sich in einer Entfernung von 0,23 mm vom Schwanzende und stellt sich als eine einfache Oeffnung für den Darmkanal dar. Der Oesophagus ist eine ziemlich dickwandige, muskulöse Röhre von 0,02 mm Breite, welche direkt von der Mundöffnung in den Darm sich fortsetzt, und enthält in der Mitte ein verhältnismäßig enges Lumen.

In einer Entfernung von 0,3 mm vom Munde wird der Oesophagus doppelt so dick, spindelförmig aufgetrieben, und die Wand scheint stark muskulös. Bald darauf wird er wieder dünner und geht in die Darmschlinge über.

Es scheint mir aber, daß der Darm eigentlich mit dem Blindsack beginnt, welcher in der Uebergangsstelle zwischen Hals und Leib dorsalwärts von dem hinteren Abschnitte des Oesophagus liegt, eine kurze Strecke parallel mit dem Oesophagus nach hinten verläuft und dann mit dem hinteren Ende desselben mehrfache Schlingen bildet, aus welchen der Enddarm entspringt, der weiter hinten zum Schwanzende läuft. Der Darmkanal hat eine fast konstante Breite von 0,02 mm und ist im Inneren stellenweise mit körniger Masse und Fetttropfchen angefüllt. Die Wand des Darmes (Dicke = 0,006 mm) besteht aus 2 Schichten. Die äußere Schicht ist eine ziemlich dicke Lamelle. Die innere ist eine einschichtige, mit großen rundlichen Kernen versehene Lage kubischer Zellen. Der After bildet eine schlitzförmige Oeffnung für das Ende des Darmes. Es gibt am After keine Papillen oder sonstige Anhangsgebilde. Am Schwanzende konnte ich auch nichts Besonderes finden.

Haut und Muskulatur.

Die äußere Oberfläche des ganzen Körpers wird von einer durchsichtigen, homogenen Cuticula überzogen. Dieselbe hat am Mittelstück des Leibes die stärkste Dicke von etwa 0,003 mm, wird nach dem Körperende etwas dünner und zeigt bei stärkerer Vergrößerung ganz feine, quere Ringelung. Unter der Cuticula liegt noch eine dünne, körnig aussehende Schicht. Direkt unter dieser subkutikularen Schicht liegt der Hautmuskelschlauch, welcher den stärksten Teil der Leibeshöhle bildet. Derselbe besteht aus mehreren rhombenförmigen, großen Zellen, welche Kerne enthalten. Der nach außen grenzende Teil dieser Zellen, also derjenige, welcher der Cuticula anliegt, ist in kontraktile Substanz umgewandelt, der ihr anliegende innere Teil protoplasmatisch geblieben. Die Breite dieser Zellen beträgt ungefähr 0,023 mm.

Geschlechtsorgane.

Die Vulva findet sich auf der Bauchseite in einer Entfernung von 1,3 mm vom Kopfende und bildet eine quere Spalte in einer rundlichen, kleinen Auswulstung. An die Vulva schließt sich die ganz kurze Vagina an und auf diese folgen die in 2 Aeste getheilten Uterusschläuche, welche bald nach hinten stark erweitert sind und mit den darin befindlichen zahlreichen Embryonen die ganze Leibeshöhle ausfüllen. Die Nachkommenschaft ist in allen Stadien ihrer Entwicklung vom Ei bis zur fertigen Larve vertreten, man kann in verschiedenen Abschnitten der Geschlechtsschläuche verschiedene Entwicklungsstufen unterscheiden. Im vorderen Ende, welches mit der Vagina resp. der Vulva zusammenhängt, begegnet man den schon vollständig ausgebildeten Embryonen, die sich umschlingend wie ein Haufen Schlangen, sich zusammendrängen, und weiter nach hinten die in einer Scheibe aufgerollten Embryonen von der Größe von 0,04—0,06 mm. Im mittleren Abschnitte der Geschlechtsschläuche haben die Eier eine 0,025—0,04 mm große, rundliche oder an gedrängt stehenden Stellen eine unregelmäßige, polygonale Form mit fein granuliertem Protoplasma.

Sie sind in allen Stadien vorhanden vom Beginne der Entwicklung an bis zum Ende der Furchung. Im hintersten Abschnitte der Uterin-

schläuche besitzen die Eier eine nach beiden Polen zugespitzte, rhombische Form, fein granuliertes Protoplasma und einen großen Kern. Die Größe ist weit geringer als die der weiter vorn liegenden Eier von 0,013 mm. Die Uterinschläuche enden dann ungefähr im hinteren letzten Viertel der Körperlänge. Daraus entspringen die 4 Ovarialschläuche, welche, sich untereinander mehrfach verschlingend, nach hinten verlaufen und kurz vor dem Schwanzende blind enden. Diese Ovarialschläuche haben eine ganz dünne, durchsichtige Membran und enthalten im Inneren massenhafte Keimzellen, welche weit kleiner als die befruchteten Eier sind. Sowohl die Eier als auch die ausgeschlüpfte Larve haben keine Hülle. Die fertige Larve im mütterlichen Leibe hat eine Breite von 0,007 mm und eine Länge von 0,29 mm. Der Kopf endet stumpf und der Schwanz ist zugespitzt. Am Kopfende befinden sich keine besonderen Differenzierungen. Der ganze Körper sieht ziemlich homogen aus. Nur in der Mitte desselben ist ein granulierter Streifen, bei stärkerer Vergrößerung eine deutliche Zellenansammlung darstellend, sichtbar, welche man als die Anlage für den Darm und Geschlechtsapparat betrachten kann.

II. Das 2. Exemplar wurde in unserer Klinik bei der Operation eines Mammaknotens einer alten Frau gefunden. Dieser Knoten war hühnereigroß, sehr hart und höckerig, so daß man ihn anfangs als von carcinomatöser Natur hielt. Nach der Exstirpation fand man nur eine stark gewucherte, bindegewebige Masse, welche von Fettgewebe umlagert war. Auf der Durchschnittsfläche derselben sah man einen lebhaft sich bewegenden Fadenwurm. Derselbe war leider stark verletzt, ungefähr in der Mitte durchgerissen. Aus der Reißstelle waren ganze Geschlechtsschläuche und Darmschlingen nebst massenhaften Eiern und Embryonen prolabierte. Obgleich die genaue Messung der Körperlänge unmöglich war, so konnte man doch aus der Beschaffenheit der inneren Organe und deren Inhalt auf eine Länge von 60—70 mm schließen; die Breite beträgt 0,20 mm. Das Kopfende, der Geschlechtsschlauch und die Darmschlinge zeigen Uebereinstimmung mit dem zuerst beschriebenen Exemplar, so daß man ohne Zweifel beide zu einer gleichen Species rechnen kann.

III. Das 3. Exemplar bekam ich aus der angeschwellenen, durch Operation exstirpierten Leistendrüse eines Filariakranken. Patient war ein Bauernbursche von 24 Jahren. Er hatte seit einigen Jahren monatlich meist einmal, selten mehrmals, auftretende Schüttelfrostanfälle und bekam allmählich Anschwellung beider Leistendrüsen und linksseitige Hydrocele, in welcher eine milchige Flüssigkeit enthalten war. In dieser fanden sich keine *Filaria*-Embryonen, aber im Blute waren sie besonders bei nächtlichen Untersuchungen massenhaft nachweisbar. Nach der Exstirpation der Leistendrüse wurden zwei Würmer in der Drüsen-substanz gefunden. Sie wurden beim Durchschneiden leider mitgeschnitten. Das Kopf- und Schwanzende ging verloren und nur 2,4 mm lange Mittelstücke blieben übrig. Durch genaue Untersuchungen konnte ich schließen, daß dieselben auch zur Art des zuerst beschriebenen Fadenwurms gehörten.

IV. Das 4. Exemplar wurde von Dr. Kumano in Kagoshima in den operierten Leistendrüsen eines Elephantiatikers gefunden, welcher eine kindskopfgroße Hodensackelephantiasis und eine bedeutende Anschwellung der Leistendrüsen hatte. Dr. Kumano hat über diesen Wurm genau berichtet und rechnet ihn nach aller Analogie zu *Filaria*

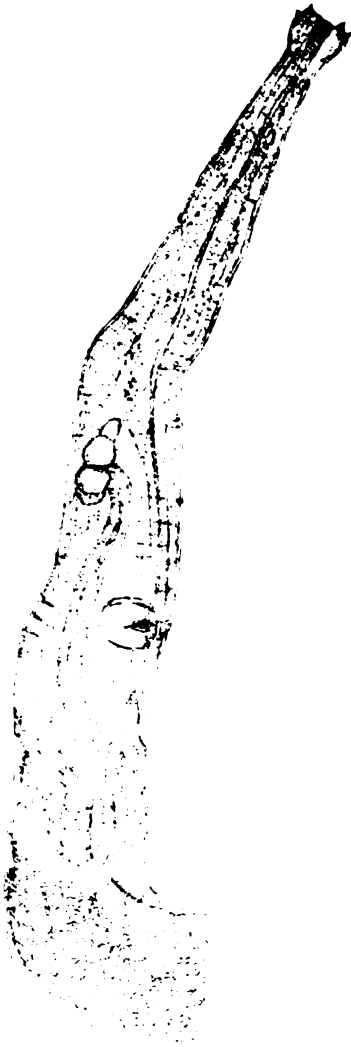


Fig. 1.

Fig. 1. Das Kopfende der *Filaria Bankrofti*; vergrößert.

Fig. 2. Das Schwanzende; vergrößert.

Fig. 3. Mittlerer Abschnitt des Wurmes mit verschiedenen Entwicklungsstufen der Eier; stark vergrößert.



Fig. 2.



Fig. 3.

Bankrofti Cobbold. Ich hatte Gelegenheit, diesen Wurm zu studieren, und spreche Herrn Dr. K u m a n o für die liebenswürdige Zuschickung des Präparates meinen verbindlichsten Dank hier aus. Dieser Wurm ist in Hinsicht des anatomischen Baues mit meinem identisch, wenn

auch die Längenschätzung mir wenig zuverlässig erscheint, da der Wurm samt der Drüsensubstanz in mehrere Glieder getrennt war.

So weit reichen meine Erfahrungen und Beobachtungen, und es entsteht nun die Frage, wohin der beschriebene Wurm systematisch gehört. Der Einfachheit halber will ich zum Vergleiche verschiedene *Filaria*-Arten, welche im menschlichen Körper parasitisch leben und mit meinem Wurm leicht zur Verwechslung kommen können, kurz gefaßt, tabellarisch darstellen (s. Tabelle p. 498).

Außer den in der Tabelle dargelegten *Filaria*-Arten müssen die folgenden von meiner Art ausgeschlossen werden. *Filaria Magalhaesi*, die einmal im Blutgerinnsel der Herzkammer gefunden wurde, übertrifft an Größe meinen Wurm weit und unterscheidet sich durch stark entwickelte, auseinanderstehende Ringel der Cuticula, die meinem Wurm fehlten. *Filaria loa*, die öfters in den menschlichen Augen auftritt und welche als die geschlechtsreife Form für die von Manson beschriebene *Filaria sanguinis hominis major* angesehen wurde, ist etwa halb so lang und doppelt so dick, als mein Wurm und zeichnet sich durch unregelmäßig verteilte Höcker der Cuticula aus, die bei meinem vollständig fehlten. *Filaria volvulus*, welche schon 3mal in Geschwülsten und Lymphgefäßen entdeckt wurde, kann man nach Prout und Labadie-Lagrange durch geringere Länge und verhältnismäßig größere Breite von meiner Art leicht unterscheiden. Vergleiche ich die von Cobbold und anderen Autoren über *Filaria Bankrofti* gemachten Beschreibungen, welche ich in der Tabelle dargelegt habe, mit meinen Befunden, so ergibt sich eine weitgehende Uebereinstimmung, die nur in einigen Punkten der Erläuterung bedarf. Cobbold, Lewis, Manson und Maitland sprechen gar nicht über die Papillen am Kopfende, nur Thiessing hat von 6 Papillen um den Mund gesprochen. In meinem Falle sah ich 2 Paare deutlich hervorragender Papillen am Kopfe, als ich den Wurm im frischen Zustande beobachtete, aber nach der Konservierung wurden sie schwer ersichtlich. Die ersteren Autoren hatten nicht gut konservierte Präparate oder beschädigte Exemplare untersucht, so daß die feinere Struktur und Lage der inneren Organe ihnen für die Untersuchung kaum zugänglich waren. Bei solchen Präparaten kann man natürlich leicht derartige zarte Gebilde vermissen, da keine Umgestaltungen infolge der Kontraktionszustände entstehen können. Wenn auch die Angabe von Thiessing und mir in Bezug auf die Anzahl der Papillen nicht übereinstimmt, so scheint es mir doch richtig zu sein, daß *Filaria Bankrofti* Cobbold am Kopfende mehrere Papillen besitzt. Das dorsalwärts am hinteren Halsteile liegende Anhangsorgan des Darmes und das Verhalten der 2 Uteri und der mehrfach getheilten Eierstöcke, die nur bei meinen Fällen beobachtet wurden, können als neue Merkmale für *Filaria Bankrofti* Cobbold in Betracht gezogen werden.

Nunmehr gehe ich auf die Embryonalformen ein, welche frei im Blute und der Lymphe vorkommen. Manson hat die *Filaria*-Embryonen in 6 verschiedene Arten eingeteilt, deren jede zu einer eigenen geschlechtsreifen Form gehören soll. Seine wichtigsten Unterscheidungsmerkmale beruhen auf den Tageszeiten, zu welchen sie im Blute vorkommen, auf der Größe und Beschaffenheit des Kopf- und Schwanzendes und der embryonalen Hülle. Ob solche Unterscheidung richtig ist, kann man nicht leicht behaupten, solange die Muttertiere noch unbekannt bleiben. Außerdem hat Manson als das vermutliche Mutter-

Name des Entdeckers Zeit der Entdeckung Ort, wo sie gefunden wurden	Lewis 1876 Kalkutta	Cobbold (Bankroft) 1877 Australien	Thlessing 1892 Rostock	Manson und Maitland 1894 Madras und Indien	Daniels 1899		Bankroft 1899 British Guiana
					British Guiana	Daniels 1899	
Körperteile, in denen sie parasitisch gelebt haben, und krankhafter Zustand des Wirtes	aus einer ektatischen Phantasie des Scrotums	4 in einem Lymph-abscesse am Arme und 1 in Spermatocoele gefunden	am Ovarium einer Frau, welche 15 Jahre in Brasilien war	aus einem Lymphabscesse am Arme	am Peritoneum einer Leiche, welche im Leben „the blunt and shorp failed filaria“ zeigte		Bankroft
Anzahl und Geschlecht	2 Exemplare, aber Schwanzende verletz	5 Exemplare weiblich	1 Exemplar weiblich	8 Exemplare Weibchen und Männchen	Weibchen		Bankroft
Länge	38 mm Bruchstück	76—89	70	0,185	70—80		Bankroft
Breite	0,254 mm	0,282	0,170	0,1	0,120		Bankroft
Kopffende	0,05 Dicke, etwas verdickt, verflachter Mund, unbewaffnet		6 Papillen am Kopfende stehen	0,03 breit	0,070		Bankroft
Breite des Halses				0,025	0,054		Bankroft
Länge des Oesophagus				0,03	0,054		Bankroft
Vulvaentfernung vom Kopffende	0,45	1,27	0,88	1,0	0,600 (?)		Bankroft
Genitalschlauch	0,01 breit			0,17			Bankroft
Schwanzende		abgerundet	abgerundet	0,03 breit	schwach bulbos-artig		Bankroft
Anus (Entfernung vom Schwanzende), Papille, Spicula		0,282		0,13 3 postanal, Papille	0,145		Bankroft
Haut und Muskulatur					Cuticula dick		Bankroft
Eier	0,018 0,012	0,028—0,025 0,015	0,127—0,2 0,008—0,01 Schwanz spitzig				Bankroft
Embryo							Bankroft

tier der *Filaria sanguinis hominis major* (*Fil. Diurna*), welche nur am Tage im Blute auftreten, *Filaria loa* angenommen. Ludwig und Sae-misch haben bei ihren Studien über *Filaria loa* Zweifel darüber geäußert, denn ihre Beobachtungen über die Größe, Hülle und das Schwanzende stimmen mit dem, was Manson angegeben hat, nicht überein. Die Muttertiere der *Filaria perstans* (*Fil. sang. hom. minor*), die angeblich eine Hautkrankheit, *Craw-Craw*, bei den Negeren Westafrikas verursacht, wurden von Daniels entdeckt, und ebenso wurden auch die Muttertiere der *Filaria Ozzardi* von ihm beschrieben. Letztere wurde bei der Sektion einer Leiche in dem Peritoneum gefunden. Hier waren im Leben 2 Arten von Embryonen, eine mit stumpfem Schwanzende und die andere mit spitzem Ende, gefunden.

Zwischen diesen beiden Muttertieren, die ich in der Tabelle angegeben hatte, und selbst zwischen diesen und der *Filaria Bankrofti*, gibt es jedoch keine so ausgeprägte Differenz, daß man besondere Species unterscheiden könnte. Denn kleine Maßdifferenzen können bei solchen kleinen Tieren aus den verschiedenen Kontraktionszuständen unvermeidlich entstehen; und das Verhalten der Schwanzenden bei den Embryonen, die der genannte Autor als das Hauptunterscheidungsmerkmal betont, steht auch noch nicht ganz außer Zweifel, ob es für den Speciesunterschied wichtig ist.

In Japan habe ich nach meiner Erfahrung 2 etwas verschiedene Formen der *Filaria*-Embryonen bemerkt. Die eine ist fast immer bei der Hämatochylurie oder sonstiger Filariosis nur im Blute vorhanden, besonders reichlich in der Nacht und nur spärlich am Tage. Nur bei denjenigen Patienten, welche des Nachts sehr zahlreiche Filarien im Blute aufweisen, sind dieselben auch am Tage sichtbar. Sie sind kürzer als die zweite Art, aber dicker, sehen also plump aus (die Länge ist 0,164 und die Breite 0,008). Das Schwanzende ist nicht so spitzig, und sie tragen meist eine durchsichtige Hülle. Diese bedeckt nicht immer gleichmäßig die ganze Körperoberfläche, sondern öfters bemerkt man auf ihrem Hinterende wie auf dem Vorderende einen dünnwandigen, durchsichtigen, abstehenden Ueberzug, der dem Kopfende wie eine Kappe aufsitzt oder hinter dem Schwanzende eine Strecke hinterher geschleppt wird.

Die zweite Form ist länger, trägt keine Hülle und ist mit einem zugespitzten Schwanzende versehen, welches ich oben schon beschrieben habe (die Länge ist 0,295 und die Breite 0,007 mm). Diese Form habe ich immer bei dem Muttertiere gefunden und öfters in der Hydrocelenflüssigkeit und an den geschwellenen Lymphdrüsen, also immer da, wo lokale Lymphstauung bestand.

Bei ein und demselben Patienten, der einerseits an Elephantiasis resp. Hydrocele, andererseits an Hämatochylurie leidet, findet man im Blute nur die erste Form. In der Hydrocele oder im elephantiasischen Gewebe die Muttertiere, daneben auch die zweite Form der Embryonen oder diese allein (z. B. der Fall bei meinem dritten Patienten). Wie die Autoren schon bestätigt haben, finde ich bei Elephantiasis im Blute keine *Filaria*-Embryonen, insofern die Patienten keine Komplikationen mit Hämatochylurie oder anderen *Filaria*-Symptomen haben, während die Muttertiere nebst massenhaften Jugendformen an Ort und Stelle gefunden werden.

Auf der Insel Amakusha, wo die *Filaria* endemisch herrscht, und wo ich dieses Thema studieren konnte, leiden 30 Proz. sämtlicher Ele-

phantiasiskranken an Hämatochylurie, und die geographische Verbreitung der Hämatochylurie verläuft mit derjenigen der Elephantiasis parallel. Nur aus jener Verschiedenheit der Embryonalformen für die Hämatochylurie und Elephantiasis besondere geschlechtsreife Formen zu vermuten, scheint mir jedoch zu weit zu gehen. Der Standpunkt unserer wissenschaftlichen Erfahrungen macht es mir wahrscheinlicher, daß beide Formen aus demselben Muttertiere stammen. Woher kommt diese Verschiedenheit? Meines Erachtens ist jene im Blute vorkommende Form als eine modifizierte Form der Larven zu betrachten. Solche mikroskopisch kleine Tierchen können im ungünstigen Boden für ihre Entwicklung eine gewisse Umformung erleiden, bis sie schließlich zum Tode geführt werden oder den Wirt verlassen, gerade wie die Bakterien durch künstliche Kultur Veränderungen erleiden. Während die Embryonen noch im Muttertiere verweilen oder, vom mütterlichen Leibe abgestoßen, im benachbarten Lymphraume existieren, bewahren sie noch ihre eigentliche Form. Wenn sie erst in das Zirkulationssystem gelangen und von dem chemischen und mechanischen Reize angegriffen werden, erfahren sie gewisse, einer Häutung ähnliche Veränderungen, bis sie schließlich vom Körper des Wirtes abgestoßen werden.

Literatur.

- 1) Leuckart, Die Parasiten des Menschen. Bd. II. 1786.
- 2) Lewis, Die geschlechtsreife Form der *Filaria sang. hom.* (Centralbl. d. med. Wissensch. 1877. No. 43.)
- 3) Cobbold, Discovery of the adult representative of microscopic filaria. (Lancet. 1877. July.)
- 4) —, On *Filaria Bankrofti*. (Ibid. Oct.)
- 5) Manson, The treatment of *Fil. sang. hom.* (Lancet. 1892. Oct.)
- 6) —, The *Fil. sang. hom.* major and minor, two new species haematozoa. (Ibid. 1891. January.)
- 7) Grassi u. Noè, Uebertragung der Blutfilaria ganz ausschließlich durch den Stich der Stechmücke. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900.)
- 8) Grassi, Malariaproblem vom zoologischen Standpunkte. (Verhdlg. d. V. internat. Zool.-Kongr. zu Berlin. 1901. August.)
- 9) Noè, Sul ciclo evolutio della *Filaria Bankrofti* (Cobbold) e della *Filaria immitis* (Leidy). (Lab. anat. Universit. Rom. 1901.)
- 10) Linstow, Ueber *Filaria Bankrofti* Cobbold. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892.)
- 11) —, Ueber die Arten der Blutfilarien des Menschen. (Zool. Anzeiger. Bd. XXIII. No. 607.)
- 12) Maitland and Manson, A case of filarie disease of the lymphaticus, in which a number of aduld filaria were removed from the arm. (Brit. med. Journ. Vol. V. 1894. p. 1844.)
- 13) Murata, Zur Kenntnis der Chylurie. (Tokio Daigakukiyo. Bd. I.)
- 14) Daniels, The probable parentol form of the sharp tailed filaria found in the blood of the aboriginals of the Brit. Guiana. (Brit. med. Journ. No. 899.)
- 15) Ludwig u. Saemisch, Ueber *Filaria loa* Gyoto im Auge des Menschen. (Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. LX. Heft 4.)
- 16) Braun, Die tierischen Parasiten des Menschen. Aufl. 1903.
- 17) Scheube, Die Krankheiten der warmen Länder. Aufl. 1900.
- 18) Kumano, Verhandlung des 9. Kiushiu-Aerztekongresses zu Kumamoto. 1900.
- 19) Prout, Observation on *Filaria volvulus*. (Brit. med. Journ. London 1901.)
- 20) Labadie-Lagrave u. Degny, M., Zool. Centralbl. 1902.
- 21) Low, Notes au *Fil. demarquai*. (Zool. Centralbl. 1902.)
- 22) Thiessing, Beiträge zur Anatomie der *Filaria sanguinis hominis*. [Dissertation.] Basel.
- 23) Esmarch-Kulenkampffe, Elephantiasis. Aufl. 1885.
- 24) Galgey, *Filaria demarquai* in St. Lucia Westindiens. (Zool. Centralbl. 1899.)
- 25) Magalhaes, *Filaria Bankrofti* Cobbold und die *Filaria immitis* Leydy. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892.)

Nachdruck verboten.

Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren.

[Aus dem kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. P. Ehrlich).]

Von Dr. **J. Morgenroth**, Mitglied des Instituts.

Bei Reagenzglasversuchen mit bakteriziden Sera beobachteten M. Neisser und Wechsberg¹⁾ die Erscheinung, daß bei einer bestimmten, gleichbleibenden Komplementmenge und Bakterienaussaat die bakterizide Wirkung mit steigender Ambozeptormenge zunächst zunimmt bis zu einem Optimum, dann aber abnimmt, bis sie endlich gleich Null wird. Dieses zunächst paradox erscheinende Phänomen wurde von den beiden Autoren auf Grund der Ambozeptortheorie dahin erklärt, daß ein Uberschuß von nicht an die Bakterienzellen gebundenen, freien Ambozeptoren vermittelt ihrer komplementophilen Gruppen das Komplement an sich reißt und von der Verankerung an die gebundenen Ambozeptoren abhält, womit auch der bakterizide Effekt, der ja ausschließlich eine Komplementwirkung ist, ausbleibt. Einwände, wie sie von Gruber und Metschnikoff gegen die Neisser-Wechsbergsche Anschauung erhoben wurden, sind von Wechsberg und in einer ausführlichen Arbeit von Lipstein entkräftet worden²⁾.

Bei hämolytischen Reagenzglasversuchen, in so großer Zahl und Mannigfaltigkeit sie auch in den letzten 5 Jahren im hiesigen Institute angestellt wurden, war die Komplementablenkung bis jetzt nicht zur Beobachtung gelangt.

An und für sich führte dieses Ausbleiben der „Komplementablenkung“ bei der Hämolyse zu keinerlei theoretischen Schwierigkeiten. War man sich doch darüber klar, daß für das Zustandekommen des Phänomens ganz bestimmte Aviditätsdifferenzen dem Komplement gegenüber maßgebend sind in der Weise, daß der freie Ambozeptor nur dann ablenkend wirkt, wenn seine Avidität zum Komplement gleich oder gerade stärker ist als die des verankerten Ambozeptors. Daß nun die hämolytischen Ambozeptoren durch ihre Verankerung an die Blutkörperchen eine erhebliche Steigerung ihrer Avidität zum Komplement im Vergleich zu den freien Ambozeptoren erfahren, ist von unserer Seite stets betont worden und fand noch unlängst durch die Erscheinungen, wie sie von Ehrlich und Sachs³⁾ bei der Komplementoidverstopfung beobachtet wurden, eine schöne experimentelle Bestätigung.

Theoretische Erwägungen ließen es nun als möglich erscheinen, die Avidität des freien, in der Flüssigkeit befindlichen Ambozeptors zum Komplement soweit zu erhöhen, daß eine Komplementablenkung eintreten konnte. Als ein geeignetes Mittel hierzu erschien die Anwendung von Antiambozeptoren.

Bekanntlich faßt die Seitenkettentheorie die Antiambozeptoren, wie sie als Reaktionsprodukte auf immunisatorische Behandlung mit Ambozeptoren gebildet werden, als freie Rezeptoren auf, welche dieselbe hapt-

1) Neisser, M. u. Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 18.

2) Lipstein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI. 1902. No. 10.

3) Ehrlich u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 21.

phore Gruppe besitzen, wie die die Ambozeptoren verankernden Rezeptoren der roten Blutkörperchen.

Es war demnach der Weg vorgezeichnet, durch die Verankerung des Ambozeptors an den Antiambozeptor in Lösung, d. h. an den gelösten Rezeptor, die Avidität desselben in der nämlichen Weise zu erhöhen, wie durch seine Verankerung an den an den Blutkörperchen befindlichen Rezeptor und ihn so zu befähigen, mit dem an den Zellrezeptor verankerten Ambozeptor in Wettbewerb um das Komplement zu treten.

Zu einem derartigen Versuche stand mir nun ein passender Antiambozeptor zur Verfügung in dem inaktiven Serum einer Ziege, welche mit einem von Kaninchen stammenden, durch Injektion von Ochsenblut erhaltenen Ambozeptor immunisiert war. Es ist dies dasselbe Serum, welches schon früher ausführlich beschrieben worden ist¹⁾ und welches seiner Entstehung gemäß gegen den Ambozeptor von mit Ochsenblut immunisierten Kaninchen schützte²⁾.

Aehnliche Versuche hatte ich schon vor Jahren angestellt, sie waren aber daran gescheitert, daß die ganz genau determinierten Versuchsbedingungen nicht eingehalten wurden, auf die hier noch näher eingegangen werden muß.

Da es sich in dem vorliegenden Falle um Blutkörperchen mit außerordentlich hoher Bindungskapazität für den betreffenden Ambozeptor handelte³⁾, der Antiambozeptor aber von mäßiger Stärke war, mußte eine sehr sorgfältige Abgrenzung der quantitativen Verhältnisse vorgenommen werden. Neben den Aviditätsverhältnissen hat natürlich das Gesetz der Massenwirkung eine nicht zu vernachlässigende Bedeutung. Angenommen, die Aviditätserhöhung des Ambozeptors durch Verankerung an den Antiambozeptor erreiche etwa denselben Grad, wie die Aviditätserhöhung durch die Bindung desselben an die Rezeptoren der Blutkörperchen, so ist leicht ersichtlich, daß für eine Komplementablenkung höchst ungünstige Bedingungen gegeben sind, wenn die vorhandene Blutkörperchenmenge etwa 100 Ambozeptoreinheiten⁴⁾ gebunden enthält, der Antiambozeptor dagegen nur einige wenige binden kann. Es mußten deshalb die Blutkörperchen so präpariert werden, daß sie nur ein geringes Multiplum der Ambozeptoreinheit verankert hielten. Andererseits mußte auf das sorgfältigste darauf geachtet werden, daß dem Antiambozeptor nicht mehr Ambozeptor zugefügt wurde, als er gerade zu binden vermochte. Denn jeder in der Lösung befindliche Uberschuß von Ambozeptor wird von den ungesättigten Rezeptoren der Blutkörperchen an sich gerissen und lenkt durch die Vergrößerung der wirksamen Massen das Komplement von dem gelösten Ambozeptor nach den Blutkörperchen hin ab. Diese Bedingungen treten in den folgenden Versuchen klar zu Tage.

Eine grundlegende Bedingung für die Möglichkeit des Versuches überhaupt war es natürlich, daß nicht etwa der Antiambozeptor im stande war, den schon an die Blutkörperchen verankerten Ambozeptor diesen wieder zu entreißen. In diesem Falle würde bei der Kontrolle, welche

1) Ehrlich u. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 21/22.

2) Das neben dem Antiambozeptor in dem Serum vorhandene geringe Antikomplement, durch Komplementoidimmunisierung entstanden, kommt bei der gewählten Versuchsanordnung nicht in Betracht.

3) Ehrlich u. Morgenroth, l. c.

4) Morgenroth u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 35.

die Basis des Versuchs bildet, die Hämolyse ganz und gar ausbleiben. Ich hatte mich aber durch besondere Versuche überzeugt, daß hier der Antiambozeptor auf den schon verankerten Ambozeptor keinen Einfluß hat.

Vorausgehen mußte die Feststellung des Antiambozeptorgehaltes nach der schon früher mitgeteilten Methode¹⁾. 0,2 ccm des Antiambozeptorserums wurden mit wechselnden Mengen von Ambozeptor versetzt. Nachdem die Gemische eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur gestanden hatten, wurde je 1 ccm 5-proz. Ochsenblut zugesetzt und nach weiterem 1-stündigen Verweilen bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Nach sorgfältiger Entfernung der klaren Flüssigkeit wurden die abzentrifugierten Blutkörperchen von neuem in Kochsalzlösung abgeschwemmt und eine reichliche Komplementmenge (0,15 ccm Meerschweinchenserum) zugesetzt. Den Verlauf der Hämolyse zeigt die folgende Tabelle:

Ambozeptormenge	Menge des Antiambozeptors 0,2 ccm	Grade der Hämolyse
0,0005 = $\frac{1}{2}$ AE		0
0,001 = 1 "		0
0,002 = 2 "		0
0,004 = 4 "		Spur
0,0075 = 7,5 "		zienlich
0,015 = 15 "		komplett

Es sind also 0,2 ccm des Antiambozeptors im stande, die Bindung von 2 Ambozeptoreinheiten vollständig, von 4 Ambozeptoreinheiten fast vollständig zu hindern.

Der Versuch zur Feststellung der Komplementablenkung durch das System Antiambozeptor-Ambozeptor wurde nun in folgender Weise angestellt:

100 ccm einer 5-proz., durch zweimaliges Waschen mit Kochsalzlösung vom Serum befreiten Aufschwemmung von Ochsenblutkörperchen werden mit 0,5 ccm inaktiven Serums eines mit Ochsenblut vorbehandelten Kaninchens versetzt. Nach gleichzeitig angestellten Kontrollversuchen würde 0,1 des Immunserums bei Gegenwart einer reichlichen Komplementmenge (Meerschweinchenserum) das Blutquantum komplett auflösen, die zugesetzte Menge von 0,5 ccm enthält also 5 Ambozeptoreinheiten. Nachdem das Gemisch eine halbe Stunde bei 40° unter häufigem Umschütteln gestanden hat, werden die Blutkörperchen abzentrifugiert, welche nun die zugesetzte Ambozeptormenge vollständig bis auf nicht mehr nachweisbare Spuren verankert haben. Nach vollständiger Entfernung der klaren Flüssigkeit werden die Blutkörperchen wieder mit physiologischer Kochsalzlösung bis zum Volumen von 100 ccm aufgenommen.

Nun werden Gemische aus Antiambozeptor-Ambozeptor hergestellt und mit Kochsalzlösung auf gleiches Volumen gebracht.

Jede Versuchsreihe enthält die gleiche Menge Antiambozeptor, 1,0 resp. 0,5 ccm, und eine konstante Menge Ambozeptor, nämlich $1\frac{1}{2}$, 3 und 10 Ambozeptoreinheiten. Zwei weitere Kontrollreihen werden gleichzeitig angesetzt, welche nur 1,0 und 0,5 ccm Antiambozeptor enthalten. Sämtliche Proben werden mit Kochsalzlösung auf gleiches Volumen gebracht und bleiben — zur sicheren Bindung von Ambozeptor und Antiambozeptor — eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Hierauf

1) Ehrlich u. Morgenroth, l. c.

werden zu jeder Reihe wechselnde Komplementmengen 1,0—0,05 ccm zugefügt und nach weiterem viertelstündigem Aufenthalte der Gemische bei Zimmertemperatur die mit Ambozeptor beladenen Ochsenblutkörperchen.

Der Verlauf eines solchen Versuches ist aus der folgenden Tabelle zu ersehen (Tabelle I). Während der Antiambozeptor allein eine Hem-

Tabelle I.

Antiambozeptormengen	Komplementmengen	Ambozeptormengen			
		0 ccm	1½ Amboz.-E. = 0,0015 ccm	3 Amboz.-Einh. = 0,003 ccm	10 Amboz.-Einh. = 0,01 ccm
1,0 ccm	1,0 ccm	komplett	komplett	komplett	wohl komplett
1,0 "	0,75 "	"	"	"	fast komplett
1,0 "	0,5 "	"	"	"	stark
1,0 "	0,25 "	komplett	stark fast komplett	mäßig wenig	minimal
1,0 "	0,1 "	"	Spur	minimal	0
1,0 "	0,05 "	sehr wenig	0	0	0
0,5 "	1,0 "	komplett	komplett	komplett	komplett
0,5 "	0,75 "	"	"	"	"
0,5 "	0,5 "	"	"	"	"
0,5 "	0,25 "	"	wohl komplett	fast komplett	stark
0,5 "	0,1 "	komplett	ziemlich	sehr wenig	Sehr wenig
0,5 "	0,05 "	"	mäßig minimal	0	Spur 0

mung der angewandten Komplementmengen nicht bewirkt, tritt dieselbe in steigendem Maße ein, je mehr Ambozeptor an den vorhandenen Ambozeptor gebunden war. Besonders eklatant ist die Erscheinung in den durch den Druck hervorgehobenen Kolonnen, die von links nach rechts zu lesen sind. Das Maß der Ablenkung erscheint hier im wesentlichen als Funktion der an den Antiambozeptor verankerten Ambozeptormenge, die Menge des Antiambozeptors ist von untergeordneter Bedeutung.

Ich lasse noch eine weitere Versuchsreihe folgen (Tabelle II), die in analoger Weise angestellt wurde, nur mit einem erheblich schwächer wirksamen komplettierenden Meerschweinchenserum und Ochsenblutkörperchen, die nur mit 4 Ambozeptoreinheiten vorbehandelt waren.

Hier tritt vor allem die schon früher betonte Notwendigkeit klar zu Tage, ein Optimum der ablenkenden Ambozeptormenge aufzusuchen, welches durch das Verhältnis vom Ambozeptor zum Antiambozeptor bedingt ist. Uebersteigt die Menge des Ambozeptors im Verhältnis zu der des Antiambozeptors eine gewisse Grenze, so bleibt der Ambozeptor ungebunden und tritt nachträglich an die zugefügten Blutkörperchen noch heran, wie aus dem Verlaufe der Reihen ersichtlich ist. Der Einfluß der Menge des Antiambozeptors auf den Verlauf dieser Störung tritt gleichfalls in der Tabelle klar zu Tage.

Es tritt also, wie aus den Versuchen ersichtlich, durch die Bindung des Ambozeptors an den Antiambozeptor eine derartige Aviditätserhöhung der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors ein, daß zu erheblicher Komplementablenkung schon sehr geringe Ambozeptormengen genügen¹⁾.

1) Interessant ist es, daß ebenso wie durch die Verankerung der cytophilen Gruppe des Ambozeptors in gewissen Fällen auch eine Zerstörung derselben durch thermische Einflüsse eine Aviditätserhöhung der komplementophilen Gruppe zu veranlassen

Tabelle II.

Antiambozeptor- mengen	Komplement- mengen	Ambozeptormengen					
		0 ccm	1 ¹⁾ Amboz.- Einh. = 0,0015 ccm	3 Amboz.- Einh. = 0,003 ccm	15 Amboz.- Einh. = 0,015 ccm	50 Amboz.- Einh. = 0,05 ccm	100 Amboz.- Einh. = 0,1 ccm
1,0 ccm	0,5 ccm	stark	Spur	Spur	Spur	fast kom- plett	komplett
1,0 "	0,25 "	mäßig	Spur	Spürchen	Spürchen	fast kom- plett — stark	"
1,0 "	0,15 "	sehr wenig	minimal	0	minimal	mäßig	"
1,0 "	0,1 "	Spur	0	0	0	sehr wenig	"
1,0 "	0,05 "	0	0	0	0	Spürchen	"
0,5 "	0,5 "	fast kom- plett	Spur	Spur	fast kom- plett	komplett	komplett
0,5 "	0,25 "	fast kom- plett	"	0	fast kom- plett	"	"
0,5 "	0,15 "	stark	minimal	minimal	ziemlich	komplett	"
0,5 "	0,1 "	wenig — sehr wenig	"	"	mäßig	"	"
0,5 "	0,05 "	Spürchen	"	0	Spürchen	"	"
0,2 "	0,5 "	fast kom- plett	wenig	stark	komplett	komplett	komplett
0,2 "	0,25 "	fast kom- plett	Spur	sehr wenig	"	"	"
0,2 "	0,15 "	stark	Spürchen	"	"	"	"
0,2 "	0,1 "	wenig	minimal	Spur-Spürch.	"	komplett	komplett
0,2 "	0,05 "	sehr wenig	"	Spürchen	fast komplett	"	"

Durch den geschilderten Versuch ist ein neuer Beweis für die Geltung der Ambozeptortheorie erbracht und zu der Erscheinung der Komplementablenkung, wie sie von M. Neisser und Wechsberg für bakterizide Ambozeptoren und zuletzt von Kyes¹⁾ für die Ambozeptoren des Cobragiftes und das nach Art eines Komplements von denselben verankerte Lecithin beschrieben wurde, das letzte fehlende Glied, die Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren eingefügt. Die früher erhobenen Einwände, daß es sich bei der Komplementablenkung um eine Einwirkung der Agglutination, um immunisatorisch entstandene Antikomplemente oder um komplementablenkende normale Serumbestandteile handle, kommen in diesem Falle von vornherein gar nicht in Frage. Denn Agglutination tritt hier überhaupt nicht ein, die Gegenwart des Antiambozeptors als *conditio sine qua non* der Ablenkung vindiziert dem Ambozeptor seine ausschließliche Bedeutung und läßt die Einwirkung andersartiger Serumbestandteile als ausgeschlossen erscheinen, an die übrigens schon angesichts der hochgradigen Verdünnung des ambozeptorhaltigen Serums kaum zu denken ist.

Besonders anschaulich und klar wird aber die der Ambozeptortheorie zu Grunde liegende Vorstellung dadurch, daß es hier gelungen ist, die Bindungskette Rezeptor-Ambozeptor-Komplement, wie sie die Theorie für die hämolytischen Vorgänge an der Zelle voraussetzt, an den in Lösung befindlichen Elementen zu demonstrieren. Hier ist kein organisiertes Gebilde mehr, das „sensibilisiert“ werden kann und nur durch Vermittelung des Ambozeptors kettet sich das Komplement an den Rezeptor.

scheint. E. Neisser und Friedenau (Berl. klin. Wochenschr. 1912, No. 23) beschrieben bei einem Serum eines Urämischen die Entstehung von komplementablenkenden Ambozeptoren durch Erwärmen auf 50°.

1) Kyes, Berl. klin. Wochenschr. 1912, No. 32 33.

Nachdruck verboten.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut zu Posen (Direktor: Medizinalrat Prof. Dr. Wernicke).]

Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz: „Ueber die Trinkwasserdesinfektion mit Jod nach Vaillard“ von Gust. Obermaier, Militärapotheker.

[Aus der bakteriolog. Untersuchungsstation des kgl. Garnisonlazarettes Würzburg.]

Von Dr. Engels,

1. Assistenten des kgl. hygienischen Institutes zu Posen.

In No. 6 des XXXIV. Bandes des Centralbl. f. Bakteriolog. etc. 1903 stellt Obermaier Versuche zwecks Trinkwasserdesinfektion nach Vaillardscher Methode an und kommt anfangs bei der Prüfung auf nach der Desinfektion noch lebensfähig gebliebene Keime zu günstigen Resultaten, da er zu wenig Material vom Versuchswasser untersuchte. Obermaier sagt aber dann: „Ganz anders fielen aber die Resultate aus, als das von Schüder (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1901. Heft 2) bei seiner Nachprüfung des Schumburgschen Bromverfahrens angegebene Peptonanreicherungsverfahren benutzt wurde.“ Obermaier beschreibt seine Versuchsordnung darauf mit folgenden Worten: „Zunächst wurde eine 10-proz. sterile Peptonkochsalzlösung hergestellt und davon zu den mit Jod behandelten und neutralisierten Aufschwemmungen der **Cholera**vibrionen in sterilem Leitungs- bzw. Mainwasser so viel gegeben, daß eine 1-proz. Lösung entstand, die 24 Stunden auf 37° gestellt wurde. Nach dieser Zeit wurde aus jeder Probe je $\frac{1}{2}$ ccm Flüssigkeit auf verschiedene Peptonröhrchen übertragen und auf 37° gestellt. Nach 6—8 Tagen war in ungefähr der Hälfte der Peptonröhrchen Wachstum und mehr oder minder starke Cholera-reaktion zu beobachten.“ „Auch diese Versuche zeigen von neuem die große Brauchbarkeit der von Schüder angegebenen Methode zur Prüfung von Wasserdesinfektionsmitteln.“

Mit den gegenwärtigen Zeilen möchte ich Obermaier darauf aufmerksam machen, daß die von ihm verwertete Methode zum Nachweise nach der Desinfektion lebend gebliebener Mikroorganismen nicht von Schüder ist, sondern in der Form zuerst von mir angegeben worden ist (Engels, Das Schumburgsche Verfahren der Trinkwasserreinigung mittels Brom. Centralbl. f. Bakteriolog. etc. Bd. XXXI. 1902. No. 13, weiter Bd. XXXII. 1902. No. 7 [Chlorkalk]). Beim oberflächlichen Studium der Literatur können beide Methoden allerdings leicht als ein und dieselbe angesehen werden und doch sind sie grundverschieden, was sich deutlich durch die mit den Verfahren erzielten Resultate dokumentiert.

Schüder selbst beschreibt seine Methode in der genannten Arbeit nun folgendermaßen: „Im einzelnen gestaltete sich das Verfahren so, daß, nachdem das Brom im Wasser durch den Zusatz der aufgelösten Tabletten unwirksam gemacht war, dem infizierten Wasser etwas gesättigte Sodälösung zugesetzt wurde, um für das Anreicherungsverfahren eine gute alkalische Reaktion herzustellen. Dann wurde die ganze Wassermenge in kleine, 100—200 ccm haltende Kölbchen verteilt und einem jeden so viel einer konzentrierten Peptonkoch-

salzlösung zugesetzt, daß eine 1-proz. Peptonkochsalzlösung entstand. Die Kölbchen wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und dann von der Oberfläche eines jeden 3 Oesen in Röhrchen mit 1-proz. Peptonkochsalzlösung übertragen, welche wiederum 24 Stunden bei 37° gehalten wurden. Nachdem die zweite Uebertragung stattgefunden, wurde mit den einzelnen Kölbchen die Cholera-rotreaktion angestellt, und wo eine solche nicht eintrat, wurde dieselbe mit dem entsprechenden Röhrchen am nächsten Tage noch einmal versucht.“

Dieses Verfahren ist aber ein ganz anderes als dasjenige, welches Obermaier angewandt hat. Ich bemerke noch, daß Schüder das Peptonanreicherungsverfahren in seiner Bromarbeit zum Nachweise von Typhusbacillen nach der Desinfektion gar nicht verwendet hat; erst im folgenden Jahre (Schüder, Hünemannsche Wasserdesinfektion. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXIX. 1902) ist von Schüder das Anreicherungsverfahren mit dem Umgießen des Versuchswassers in einzelne Kölbchen beim Typhusnachweis zur Anwendung gekommen. — Es muß betont werden, daß Obermaier in seiner Arbeit weder diese letzte Schüdersche noch meine oben zitierte Arbeit erwähnt. In letzterer würde er das Verfahren gefunden haben, welches ich zuerst zum Nachweise nach der Desinfektion noch lebensfähig gebliebener Keime vorgeschlagen und praktisch erprobt habe. „Dem bromierten und neutralisierten Cholerawasser setzte ich so viel einer von mir selbst angefertigten konzentrierten Peptonkochsalzlösung zu, daß im Wasser eine 1-proz. Peptonkochsalzlösung entstand. Der ganze Inhalt eines Kolbens wurde also unter günstige Wachstumsbedingungen gebracht und der Kolben sodann im Brutschranke bei 37° gehalten. Nach 2mal 24 Stunden entnahm ich mit steriler Pipette 2 ccm von dem Kolbeninhalt, der sich bis dahin schon meist diffus getrübt hatte, und goß dieselben zu einer Gelatineplatte aus“ etc. Es wurde demnach das Versuchswasser nicht in kleine Kölbchen, wie Schüder es tat, umgefüllt, sondern der ganze Kolbeninhalt in eine Nährlösung verwandelt. Genau so ging jetzt auch Obermaier vor, er irrt sich aber, wenn er glaubt, die Methode sei von Schüder. Sollte meine Arbeit Obermaier beim Studium der Literatur, letzteres ist doch notwendig, entgangen sein oder aber er die Schüderschen Darlegungen falsch aufgefaßt haben oder aber hat er meine Methode anwenden wollen und hat sich nur im Namen geirrt? Ich vermag es nicht zu entscheiden. Mein Verfahren habe ich einheitlich auch für den Typhusnachweis stets durchgeführt und hat dieselbe sich vorzüglich bewährt. Einige Einwendungen, die ich gegen die Schüdersche Versuchsanordnung schon früher hervorgehoben habe, lassen sich auch dazu noch gegen Obermaier erheben. Das jedoch nur nebenbei. Die Vorzüge meines Verfahrens gegenüber demjenigen Schüders habe ich in meiner oben zitierten Arbeit auseinandergesetzt. In eklatanter Weise bestätigt dieselben neuerdings Ballner, Weitere Beiträge zur Gewinnung von keimfreiem Trinkwasser durch Zusatz von Chlor und Brom (Archiv f. Hygiene. Bd. XLVIII. 1903. Heft 2): „Wenn wir von unseren Versuchen diejenigen, bei welchen die gleiche Kulturmenge des pathogenen Mikrobenmaterials dem bestimmten Quantum des Versuchswassers zugesetzt wurde, in Betracht ziehen, so können wir dieselben in zwei Gruppen

sondern, je nachdem die ganze infizierte und nachher sterilisierte Wassermasse zur Prüfung auf Keimfreiheit benutzt wurde (Verfahren nach Engels) oder durch das Abziehen des Versuchswassers in kleine Kölbchen bloß der größte Teil mit Ausschluß des Bodensatzes zur Verarbeitung kam (Verfahren nach Schüder). Für den letzteren Fall liegen bei Typhuswässern 13 Versuchsreihen vor, davon 2 mit negativem Erfolge, entsprechend einem Prozentsatze von 15,3 Proz. Mißerfolg. Wurde die gesamte Wassermasse auf den Sterilisationserfolg untersucht, so kamen in 6 Versuchen mit Typhuswässern 3mal die Typhusbacillen zum Wachstum, entsprechend also einem negativen Ausfall von 50 Proz. Bei den Versuchen mit Choleravibrionen und Uebertragung des sterilisierten Wassers in kleine Kölbchen ließen sich unter vier Versuchen niemals lebensfähig gebliebene Vibrionen nachweisen, im Gegensatz zu den Resultaten auf Tabelle XIV, wobei sich unter 10 Versuchen in 3 Fällen der Choleravibrio identifizieren ließ.“ Ballner sagt deshalb mit Recht weiter: „Es besagen diese Vergleiche, daß die beiden, bei flüchtiger Betrachtung gar nicht viel voneinander differierenden Versuchsanordnungen doch schon wesentlich verschiedene Resultate liefern können“. Die sicherere und exaktere Methode ist das von mir ausgearbeitete Verfahren zum Nachweise nach der Desinfektion noch lebensfähig gebliebener Keime sowohl für die Choleravibrionen als für die Typhus- und anderen Keime, da bei meiner Methodik, worauf ein großes Gewicht zu legen ist, auch der Niederschlag berücksichtigt wird, welcher auf mechanischem Wege Keime mitreißt und durch Sedimentierung am Boden absetzt. Diese im Sediment sich befindenden Mikroorganismen werden und können bei dem Schüderschen Verfahren entweder gar nicht oder nur in ungenügender Weise berücksichtigt werden, daher dann die verschiedenartigen, teilweise günstigeren Resultate wie die meinigen.

Nachdruck verboten.

Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose, in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gram-Färbung in Betracht kommenden Faktoren.

[Arbeit aus dem botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **E. Neide.**

Mit 1 Tafel.

Das verschiedene Verhalten der einzelnen Bakterien-species gegenüber der entfärbenden Wirkung des Alkohols bei gleicher Anwendung des Gramschen Verfahrens ist schon in der älteren Literatur häufig hervorgehoben worden (s. Grimme, 1902. p. 22).

Damit eröffnet sich die Aussicht, das Verhalten der einzelnen Bakterien-species gegen die Gramsche Färbung als Speciesmerkmal benutzen zu können, wenn

- 1) ein Maßstab für die Entfärbbarkeit sich aufstellen läßt,
- 2) die Bakterienspecies in Bezug auf die Entfärbbarkeit sich innerhalb gewisser Grenzen konstant verhalten.

Der letzte Punkt ist wichtig und bisher wenig untersucht worden. Die Angaben von Mills (1892), Schmidt (1892), Wilde (1896), lassen Sicheres darüber nicht schließen.

Dagegen hat Grimme einen Beitrag zur Klärung der Frage geliefert durch seine Feststellung, daß die Morphoden und die Entwicklungsstadien einer Species gegen die entfärbende Wirkung des Alkohols eine verschiedene Widerstandsfähigkeit zeigen. Er fand bei *Bacillus cohaerens* und *tumescens*, daß die Ruhestäbchen und Sporangien den Farbstoff aus dem Cytoplasma an etwas wässrig gewordenen absoluten Alkohol am schnellsten abgaben, daß die Keimstäbchen nach etwa einstündiger Einwirkung noch eine sehr kräftige Färbung behielten und daß die Sporenanlagen in den Sporangien und ebenso die älteren und ausgewachsenen Sporen nach der gleichen Zeit noch nichts von der Farbe verloren hatten. 8—10 Tage alte Kulturen von *Bacillus cohaerens* zeigten nach der Alkoholbehandlung nur die Cytoplasma-teile gefärbt.

Nach dieser Erfahrung müßte eine Methode, welche die Erkennung einer Species nach ihrem Verhalten zu der Entfärbung von der Gramschen Färbung durch Alkohol ermöglicht, so gestaltet sein, daß nur ein bestimmtes Entwicklungsstadium einer Speciesmorphode oder besser das Verhalten aller Morphoden einer Species zum Vergleich herangezogen würde.

Auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Professor Arthur Meyer versuchte ich, die Frage zu beantworten, ob die Gramsche Färbungsmethode so zu gestalten sei, daß die Zeit, in welcher die verschiedenen Morphoden einer Species entfärbt werden, als ein Speciescharakter Verwendung finden könne.

Zu diesem Behuf wurden folgende Punkte zum Gegenstand der Untersuchung gemacht:

- 1) Welches Entwicklungsstadium der Speciesmorphoden kann der Beurteilung des Entfärbungsgrades zu Grunde gelegt werden?
- 2) Welcher Färbungsgrad oder Entfärbungsgrad ist in zweckmäßiger Weise als Grenzpunkt (Testfarbe) zu betrachten?
- 3) Welche Konzentration und welche Temperatur des Alkohols ist zur Entfärbung zu benutzen?
- 4) Welche Bedeutung haben die einzelnen, für die Gram-Färbung in Betracht kommenden Faktoren für die Gleichmäßigkeit des Ergebnisses der Entfärbung?

1. Das zur Gram-Färbung gewählte Entwicklungsstadium der Speciesmorphoden.

Das allen sporenbildenden Bakterienspecies gemeinsame, verschiedene Verhalten der einzelnen Morphoden gegenüber der entfärbenden Wirkung des Alkohols macht die Auswahl eines bestimmten Stadiums notwendig, an welchem die Entfärbung beobachtet wird. Die Alkoholfestigkeit der Sporen und der Sporenanlagen in den Sporangien ist bei einzelnen Spezies so groß, daß auch im wässrigen Alkohol oft viele Stunden, selbst Tage zu ihrer Entfärbung erforderlich sind.

B. Carotarium zeigte in 90-proz. Alkohol noch eine dunkelviolette Färbung der Sporen nach $5\frac{1}{2}$ Stunden. Nach 24 Stunden war der

Farbenton noch violett, nach 48 Stunden nicht wesentlich weiter verändert. Aehnlich verhielten sich in gleichen Verhältnissen *B. subtilis*, *B. ruminatus*, *B. tumescens*, *B. Ellenbachensis*, *B. robur* und andere. Nicht viel weniger Zeit beanspruchen die Keimstäbchen. Eine 5-stündige Kultur des *B. tumescens* war in 80-proz. Alkohol noch nach 18 Stunden blauviolett gefärbt und erst nach 40 Stunden war jede Färbung verschwunden. Ruhestäbchen und Oidien desselben Bacillus sind jedoch in 80-proz. Alkohol zum großen Teil schon nach 10—20 Minuten und die widerstandsfähigen nach $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunden entfärbt.

Gegen die Wahl der Sporen und Sporenanlagen, sowie der Keimstäbchen als Beurteilungsobjekte für die Entfärbung spricht mithin die lange Zeitdauer, welche sie bis zur Entfärbung brauchen. Bei den Keimstäbchen ist man überdies vielfach in der Menge des Materiales beschränkt, weil einzelne Species im Anfang sich nur langsam entwickeln.

Die Ruhestäbchen und ebenso die verschiedenen Sporangien einer Kultur hingegen zeigen unter sich eine große Verschiedenheit in ihrer Alkoholfestigkeit. Dieselbe wird bedingt durch die größere oder geringere Protoplasmamasse der Einzelzellen, welche dementsprechend die Gram-Färbung längere oder kürzere Zeit zurückhält (vgl. Grimme, p. 25). Auch in einer gesunden, mit 1 Minute lang abgekochtem Sporenmaterial angesetzten und bei 28° im Brutschrank gehaltenen Agarstrichkultur werden sich schon nach ziemlich kurzer Zeit Oidien entwickeln, welche infolge örtlichen Nahrungsmangels weniger kräftig sind, in ihrer Entwicklung zurückbleiben und dem Absterben oder dem Verfall nahe stehen. Sie nehmen die Gram-Färbung weniger auf und geben sie an den entfärbenden Alkohol um so schneller ab. Der Protoplast der Sporangien wird in ähnlicher Weise mit der zunehmenden Entwicklung der Sporenanlage geschwächt. Die Entfärbung des Protoplasten der Sporangien ist fast durchgängig eine sehr beschleunigte, wenn auch im einzelnen je nach dem Grade der Reife der Sporen geringe Zeitunterschiede auftreten.

Nach eingehenden Vergleichen der verschiedenen Entwicklungsstadien der Morphoden an fast allen von Gottheil (1901) beschriebenen Bakterien-species in Beziehung auf ihre Alkoholfestigkeit erschien es mir am zweckmäßigsten, zur Beurteilung der Entfärbung die Ruhestäbchen in demjenigen Stadium zu Grunde zu legen, in welchem sie sich eben zur Sporenanlage anschicken. Allerdings sind die Ruhestäbchen zu diesem Zeitpunkt bei weitem nicht so gleichmäßig kräftig entwickelt, als die Keimstäbchen gleich nach der Keimung. Durchschnittlich findet man aber hinreichend gesunde Stäbchen, um an ihnen den normalen Verlauf der Entfärbung durch Alkohol verfolgen zu können. Sind in diesem Stadium schon einige Sporenanlagen vorhanden, so gewähren dieselben nicht selten einen Anhalt zur Beurteilung des erreichten Entfärbungsgrades. Der Beobachtung und der Beurteilung des Entfärbungsgrades habe ich nur die gesunden, kräftig gefärbten Ruhestäbchen des Präparates unterzogen.

Diese machen sich meist nach kürzerer Einwirkung des Alkohols neben den übrigen, mehr oder weniger entfärbten, schlecht genährten, abgestorbenen oder degenerierten Oidien durch ihre dunkle Färbung bemerkbar. Vielfach liegen sie in Gruppen nebeneinander, nur von einzelnen helleren Stäbchen durchsetzt, teils auch kommen sie vereinzelt

zwischen den letzteren vor. Bei der Durchmusterung des Präparates sind diese einzelnen Stäbchen dann gleichfalls als Maßstab der Entfärbung mit zu beachten.

Der Eintritt des Entwicklungsstadiums, welches ich bei meinen Färbungen verwendete, ist für jede Species konstant, wenn dabei, wie ich ausdrücklich hervorhebe, von genau 1 Minute lang abgekochtem Sporenmateriale ausgegangen und die Agarstrichkultur gleichmäßig bei 28° im Brutschrank gehalten wird. Für *B. tumescens*, *ruminatus*, *megatherium*, *silvaticus* tritt derselbe nach 18–20 Stunden ein, für *B. sphaericus* nach 16–18, für *B. lactis* Flügge I nach 30–32, für *B. robur* A. M. et N. nach 36–38, für *B. parvus* A. M. et N. nach 40–44 Stunden, für *B. Carotarum* nach 6 Tagen.

2. Grenzpunkt der Entfärbung (Testfarbe).

Es lag nahe, die völlige Entfärbung der gefärbten Individuen als Grenzpunkt anzusehen. Jedoch ließen mich folgende Wahrnehmungen davon absehen:

Als ich *B. Carotarum* nach Gram gefärbt und in absoluten Alkohol gelegt hatte, zeigte er sich nach 8 Tagen noch ziemlich tief violett und auch nach 4 Wochen noch nicht völlig entfärbt. Der Protoplast hatte immer noch einen violetten Farbenton.

Ähnlich verhielten sich *B. ruminatus*, *Ellenbachensis*, *tumescens*, *subtilis*, *lactis* Flügge I und V, *B. parvus* A. M. et N. Nach 4, 6 und 8 Wochen langer Aufbewahrung in absolutem Alkohol bei Zimmertemperatur wurde von mir zwar eine Abnahme der Intensität, aber meist noch eine deutliche Färbung gefunden.

Bei Anwendung von wasserhaltigem Alkohol tritt zwar eine völlige Entfärbung schneller ein, so daß die normalen Ruhestäbchen und Oidien jeden violetten oder blauen Schimmer verlieren und zuletzt schwachblau oder grau erscheinen, aber zur völligen Entfärbung ist doch bei einigen Species eine noch sehr lange Zeit nötig. Einige Beispiele mögen das erläutern:

Bacillus fusiformis, Material 20 Stunden alt, aus meist Ruhestäbchen und wenigen Sporangien bestehend, zeigte mit 80-proz. Alkohol bei Zimmertemperatur behandelt bei anfänglich tief schwarz-blauer Färbung (Fig. 1), nach 2 Std. 10' den Farbenton von Fig. 2, nach 5 Std. 30' den Farbenton von Fig. 3, nach 16 Std. 30' den Farbenton von Fig. 3, nach 24 Std. den Farbenton von Fig. 4.

Bacillus Carotarum, Material 6 Tage alt, vorzugsweise Ruhestäbchen und ca. $\frac{1}{10}$ Sporangien hatte, bei ursprünglich schwarzblauer Färbung (Fig. 1), nach Behandlung mit 80-proz. Alkohol bei Zimmertemperatur nach 2 Std. 30' den Farbenton von Fig. 2, nach 5 Std. den Farbenton von Fig. 3, nach 10 Std. den Farbenton von Fig. 3, nach 24 Std. den Farbenton von Fig. 4, nach 72 Std. den Farbenton Fig. 4.

Bacillus tumescens, Material 18 Stunden alt, hauptsächlich Ruhestäbchen mit wenig Sporangien, zeigte bei ursprünglich tiefvioletter Färbung (Fig. 1) nach Behandlung wie obenstehend, nach 1 Std. 15' den Farbenton von Fig. 2, nach 2 Std. 15' den Farbenton von Fig. 3, nach 3 Std. 40' den Farbenton von Fig. 3, nach 24 Std. 30' den Farbenton von Fig. 4, nach 48 Std. den Farbenton von Fig. 4.

Bacillus subtilis, Material 48 Stunden alt, aus Ruhestäbchen und wenig Sporangien bestehend, ursprünglich tief schwarzviolett gefärbt (Fig. 1), hatte nach Behandlung mit 90-proz. Alkohol bei 28°, nach

2 Std. 15' den Farbenton von Fig. 2, nach 3 Std. 15' den Farbenton von Fig. 3, nach 6 Std. den Farbenton von Fig. 3, nach 19 Std. den Farbenton von Fig. 4, nach 24 Stunden den Farbenton von Fig. 4.

Da also auch hier die Entfärbung in viel zu langen Zeiträumen sich vollzieht, so konnte die vollständige Entfärbung nicht als Grenzpunkt angesehen werden.

Es mußte demnach aus den vielfach abgetönten Farbenshattierungen des allmählichen Ueberganges von der vollen Gram-Färbung bis zur annähernden Entfärbung ein bestimmter Farbenton ausgewählt und derselbe als „Testfarbe“ der Untersuchung zu Grunde gelegt werden. Dabei entsteht nun aber wiederum die Schwierigkeit, daß die Farben bei den verschiedenen Bakterien nicht gleich ausfallen. Manche Species erscheinen mehr bläulich, manche mehr rötlich gefärbt. Es konnte also eigentlich nur die Intensität einer Mittelfarbe als Testfarbe festgehalten werden. Da unseren Augen die Farbenstärken der Objekte verschieden erscheinen, wenn die Lichtquelle verschieden ist, so muß bei der Beleuchtung der Objekte immer mit denselben Objektiven, bei derselben Blendenweite und bei derselben Lichtquelle gearbeitet werden.

Ich habe es nun schließlich zweckmäßig gefunden, diejenige Färbung als Grenzfarbe anzunehmen, welche der Protoplast der normalen Ruhestäbchen des *B. tumescens* nach folgender Behandlung annimmt: Das nach Gram gefärbte Präparat einer ca. 18 Stunden alten Agarstrichkultur des Bacillus wird, in Korkeinschnitten befestigt, in ein mit eingeschliffenem Glasdeckel geschlossenes Glasgefäß mit 80-proz. Alkohol gelegt und bei 28° in den Brutschrank gesetzt. Nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunde wird das Präparat unter dem Mikroskop in Alkohol untersucht. Die Intensität der Färbung der normalen Ruhestäbchen, welche noch keine Sporenanlagen entwickelt haben, entspricht dann ungefähr der Fig. 3, wenn man die Beobachtung mit folgendem Instrumente ausführt: Zeiss, Jena, Abbescher Beleuchtungsapparat, Blende halbgeöffnet, Planspiegel, Objektiv E, Okular 4, Mikroskopierlampe nach Arthur Meyer (Seibert-Wetzlar) mit dazu gehörigem Querbrenner.

Ich nenne nun zur bequemeren Bezeichnung den Farbenton der Fig. 1, ursprüngliche Gram-Färbung; denjenigen von Fig. 2 grob entfärbt, Fig. 3 Testfarbe oder entfärbt, den Farbenton von Fig. 4 violetten oder blauen Schein und Fig. 5 total entfärbt.

3. Konzentration und Temperatur des entfärbenden Alkohols.

a) Konzentration des entfärbenden Alkohols. Zur Entscheidung der Frage, welche Konzentration des Alkohols zur Entfärbung der Präparate gewählt werden solle, waren zwei Gesichtspunkte maßgebend.

Einmal durfte die Entfärbungszeit nicht zu ausgedehnt sein, um die Entscheidung über den Eintritt der Testfarbe nicht zu großen Schwankungen zu unterwerfen. Zweitens sollte die Entfärbungszeit doch wieder ausreichend lang sein, um die Differenzierung der einzelnen Species in nicht zu kurze Zeitgrenzen zusammenzudrängen.

Ich gebe einige Versuche mit 90-proz. und 80-proz. Alkohol wieder, welche bei einer Temperatur von 28° angestellt waren. Entfärbungszeit bis zum Eintritt der Testfarbe.

	in 90-proz. Alkohol	in 80-proz. Alkohol
B. Ellenbachensis	2 Std. 50'	50'
B. tumescens Z.	3	1 Std. 20'
B. robur	3 „ 20'	1 „ 35'
B. Carotarum	5 „ 35'	2 „ 45'
B. subtilis	8 „ 30'	2 „ 10'

Der Uebergang zur Testfarbe war bei allen Species im 90-proz. Alkohol ein viel allmählicherer, als im 80-proz. Alkohol, so daß die Entscheidung bei dem ersten stets ungewisser war, als bei dem letzteren. Bei dem 80-proz. Alkohol vollzog sich der Uebergang von der Farbe der Fig. 2 zu derjenigen der Fig. 3 in der Regel in ziemlich kurzer Zeit.

In 60-proz. Alkohol hatte *B. tumescens* nach 1 Stunde die Testfarbe erreicht, in 40-proz. nach 25'. In 20-proz. Alkohol war die Entfärbung ganz wesentlich langsamer. Die Testfarbe trat nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden ein. In 10-proz. Alkohol zeigte sich die Testfarbe erst nach 6 Stunden und war selbst nach 56 Stunden noch erhalten. — Da nach vorstehendem der Uebergang zur Testfarbe beim 80-proz. Alkohol ein verhältnismäßig kurzer war, der 60-proz. Alkohol wegen rascher Entfärbung die Zeiträume für die Unterscheidung zu sehr abkürzt, habe ich den 80-proz. Alkohol dauernd benutzt.

b) Die Temperatur des Alkohols. Die eben angeführten Feststellungen der Entfärbungszeit wurden bei 28° vorgenommen. Ließ ich dagegen z. B. das Präparat des *B. tumescens* bei Zimmertemperatur, 18°, im 80-proz. Alkohol stehen, so zeigte sich die Testfarbe erst nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, in 10-proz. Alkohol erst nach 60 Stunden. — Erwärmte ich den Alkohol auf 40°, so trat die Testfarbe nach 8', bei 60° nach 3—4' ein.

Die Ausführung der Entfärbungsversuche bei Zimmertemperatur verbot sich daher aus zwei Gründen. Erstens wären die Entfärbungszeiten unverhältnismäßig lange geworden, zweitens hätten die besonders im Sommer häufigen Schwankungen der Zimmertemperatur die Gleichmäßigkeit des Ergebnisses nicht unwesentlich beeinträchtigt. Eine Erhöhung der Temperatur über 28° würde andererseits die Entfärbungszeiten der verschiedenen Species zu sehr zusammengedrängt haben.

Der zur Entfärbung benutzte 80-proz. Alkohol wurde deshalb von mir dauernd bei 28° im Thermostaten gehalten.

4. Der Einfluß der für die Gram-Färbung in Betracht kommenden Faktoren auf die Gleichmäßigkeit des Ergebnisses.

Soll die Zeit, zu welcher die Entfärbung eines nach Gram gefärbten Präparates bis zur Testfarbe erfolgt, als Merkmal für die Species benutzt worden, so muß die ganze Methode der Färbung und der Entfärbung so gestaltet werden, daß sie stets das gleiche Resultat für eine bestimmte Morphode einer bestimmten Species ergeben kann. Es ist auf Grund der sogleich zu besprechenden Erfahrungen folgende Methode von mir ausgearbeitet worden, welche diesen Anforderungen entspricht:

Als Bakterienmaterial diente eine Dextrose-Agarstrichkultur, die nach genau 1' langem Abkochen der Sporen sich bei 28° im Brutschrank so weit entwickelt hatte, daß die Oidien die ersten Sporenanlagen bildeten. Bei *B. tumescens* tritt dies Entwicklungsstadium auf der Mitte der Agarkolonie nach ca. 18 Stunden ein. Von dem Material entnahm ich eine kleine Platinöse derart, daß die Kolonie bis dicht auf die Oberfläche des Agars abgehoben wurde und verrieb sie darauf gründ-

lich mit 6 großen Wassertropfen in einem Uhrgläschen. Von dieser Mischung fertigte ich durch dreimaliges Ueberstreichen der eingetauchten Platinnadel über das Deckglas 2 Deckglaspräparate an, nachdem die Gläschen vorher mit Alkohol gereinigt und in der nichtleuchtenden Bunsenflamme abgeglüht waren. Nach dem Lufttrocknen zog ich zur Fixierung das Deckgläschen nicht durch die Bunsenflamme, sondern legte es 5' lang auf das Trockenbad (s. Arthur Meyer. 1899. p. 428) bei 40°. Gleichzeitig bezeichnete ich die Materialeite mit einem Buntfettstift. Die Färbung mit Methylviolett erfolgte demnächst in einem Glasschälchen, das, mit Farblösung gefüllt, auf dem Trockenbade bei 80° konstanter Temperatur stand und mit einem zweiten Gläschen zugedeckt war. Die Präparate wurden mit der Materialeite nach unten so in die Farblösung hineingelegt, daß sie vollständig damit bedeckt waren. Als Farbstoff benutzte ich ausschließlich Methylviolett BB der Höchster Farbwerke. Von der alkoholgesättigten Lösung dieses Farbstoffes, welche nach meiner nachträglichen Feststellung 10 g Farbstoff auf 20 ccm 95-proz. Alkohol enthielt, waren nach Ehrlich 11 ccm mit 100 ccm 4-proz. Anilinwasserlösung gemischt und vor dem Gebrauch 12 Stunden stehen gelassen worden. Zu jedem Präparat gebrauchte ich eine frische Füllung des Glasschälchens mit Farbstoff. Die Anfertigung der Methylviolettfarbstofflösung erfolgte regelmäßig nach je 7 Tagen von neuem. Nach genau 2' langem Aufenthalt des Präparates in der Farbstofflösung wurde der Farbstoff von der Materialeite mit Fließpapier abgesaugt, von der Rückseite abgewischt und die Deckgläschen in Kornettpinzetten an einem Stativ so aufgehängt, daß sie vollständig in die Jodjodkaliumlösung eines darunter aufgestellten Gläschens tauchten. Die Jodjodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser) fertigte ich täglich frisch in kleineren Mengen an, hielt sie in einer wohlverschlossenen Flasche und füllte das Gläschen zum Jodkaliumbade nach Bedarf aus dieser. Jede Füllung wurde nur einmal benutzt. Nach 2' langem Verbleiben in der Jodjodkaliumlösung beseitigte ich von dem Präparate die noch anhaftende Lösung in obenstehender Weise, klemmte die beiden Deckgläschen, bevor sie lufttrocken geworden waren, in die Einschnitte eines Korkes, der in der Mitte mit einem Glasstäbchen versehen war und legte sie in das im Brutschrank auf 28° erwärmte Alkoholgefäß. Es waren stets mehrere 80-proz. Alkoholgläser in Benutzung, eins zur ersten Entfärbung, bis der Farbstoff im groben vom Präparat gelöst war, ein zweites mit noch vollständig hellem Alkohol zur weiteren Entfärbung. In bestimmten Zeitabständen (15', 30', 45' etc.) erfolgte die mikroskopische Untersuchung des einen Deckglases (vgl. unter No. 2 p. 511), und zwar stets in Alkohol. Zur Erneuerung der leicht verdunstenden Einschlußflüssigkeit stand ein Gefäß mit 80-proz. Alkohol neben dem Instrument. Das zweite Präparat verblieb zur Kontrolle im Brutschrank.

A. Einfluß des Alters und der Ernährung der Kultur.

1) Das Alter. Die leichtere Entfärbbarkeit alter Kulturen, wie sie von Czaplewski und anderen angegeben wird, weist Grimme, p. 14 u. 15) für *B. cohaerens* im 100-proz. Alkohol nach. 8—10 Tage alte Kulturen entfärbten sich nach 30' vollständig. Ich fand, daß eine 48-stündige Kultur des *B. tumescens* in 80-proz. Alkohol schon nach 45' die Testfarbe erreicht hatte, während die 18-stündige Kultur hierzu $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunde gebraucht. 14 Tage alte Kulturen des *B. silvaticus*, des *B. subtilis*, des *B. megatherium* entfärbten sich schon nach

5—10⁶ in 80-proz. Alkohol größtenteils total (Fig. 5). Nur wenige Stäbchen zeigten noch violetten Schein (Fig. 4). 2) Die Ernährung. Ich verglich zur Entscheidung der Frage über den Einfluß der Ernährung einer Kultur auf ihre Entfärbung den *B. tumescens* auf Agar mit und ohne Dextrose.

Nach 25' langer Einwirkung des 80-proz. Alkohols bei 28° ist für die Kultur auf Agar ohne Dextrose die Färbung eine gleichmäßigere und stärkere, als auf Agar mit Dextrose. Nach 1 Stunde ist die Zahl der entfärbten Stäbchen eine geringere. Nach 1½ Stunden ist noch eine relativ große Zahl von Stäbchen vorhanden, welche die Testfarbe noch nicht erreicht haben, während das Präparat von Agar mit Dextrose normal entfärbt ist. Durch den Fortfall der Dextrose im Nährboden verlängerte sich mithin die Entfärbungszeit.

Das gleiche Resultat ergab ein Präparat desselben Bacillus, welches von einer in peptonhaltiger Nährlösung (No. III, Arthur Meyer, 1903, p. 24) gewachsenen Kultur angefertigt war.

Bei einem aus der Nährlösung IV (nur Asparaginlösung) hergestellten Präparat des *B. tumescens* wurde die Testfarbe nach 4½ Stunden noch nicht erreicht.

Auf der anderen Seite fand gegenüber der normalen Entfärbungszeit von 1½ Stunden des Bacillus ein um ca. ¾ Stunden früherer Eintritt der Testfarbe statt, nachdem ich eine 20-stündige Kultur von Dextroseagar 4mal auf Dextroseagar umgeimpft hatte.

Diese Tatsachen lehren, daß der Nährboden von Wichtigkeit für die Gleichmäßigkeit der Entfärbung ist, und fordern daher eine möglichst gleiche Zusammensetzung desselben und eine hinreichend lange Kultivierung der einzelnen Species auf dem gleichen Nährsubstrat. Da die Uebertragung einer Species aus dem natürlichen Nährsubstrat auf den Dextroseagar vielfach ganz veränderte Ernährungsbedingungen mit sich bringt, so ist von mir auch bei den Entfärbungsversuchen stets nur von Bakterienmaterial ausgegangen, welches mindestens 4 Wochen lang auf Dextroseagar weitergezüchtet war.

Nicht unerwähnt will ich lassen, daß nach meinen Erfahrungen auch ein gewisser Wert auf die Art der Entnahme des Untersuchungsmaterials von der Agarstrichkultur zu legen ist. Eine große Zahl von Bakterien-species, besonders der Bodenbakterien, entwickelt schon nach kurzer Zeit dicke Kolonien, deren oberste Schicht mit dem Nährsubstrat selbst nicht mehr in Berührung steht. In ihr finden sich meist die weniger gut ernährten, degenerierenden Individuen. Ich habe es daher zweckmäßig gefunden, mit der Platinöse stets auf der Agarfläche selbst entlang zu gehen, um möglichst gut entwickeltes Material zu erhalten. Auch nahm ich das Material regelmäßig von dem mittleren Drittel der Agarstrichkultur, weil im oberen Drittel durch die bisweilen größere Trockenheit, im unteren durch den Einfluß des Kondenswassers Verschiedenheiten in Stärke und Stadium der Entwicklung verursacht werden.

B. Einfluß der Art der Belegung des Deckglases mit Material. Viel Material auf dem Deckglase hindert nicht allein die Uebersicht, es beeinflusst auch das Ergebnis der Untersuchung. Je dichter die Individuen aneinander liegen, um so stärker schlägt sich der Farbstoff auf die Gruppen nieder, um so längere Zeit braucht der Alkohol zur Entfärbung auch der einzelnen Individuen. Das Material ist daher so dünn und gleichmäßig zu verteilen, daß einzelne Bakterien

zur Untersuchung gelangen können, oder daß doch wenigstens keine doppelte Schichtung der Individuen vorhanden ist.

Das Verfahren, eine kleine Platinöse voll Material mit 6 großen Wassertropfen in einem Uhrschälchen zu verreiben, und von dieser Mischung mit einer Nadel das Deckgläschen 3mal zu überstreichen, zeigte sich bei meinen Versuchen diesen Anforderungen entsprechend. Zugleich enthielt das Präparat hinreichend Material zur Vergleichung, ohne das bisweilen recht zeitraubende Suchen mit in den Kauf nehmen zu müssen.

C. Einfluß der Fixierung. Nach den Beobachtungen von Paltauf (1891) und Flügge (1896) sind die verschiedenen Fixierungsmittel nicht ohne Einfluß auf die Alkoholfestigkeit. Ich erhitzte zur Fixierung vor der Färbung mehrere Präparate von *B. tumescens*, *B. ruminatus* und *B. robur* 15' lang auf dem Trockenbade bei 95°. Danach entfärbt sich: *B. tumescens* in 40', 27' und 50', Normalentfärbungszeit 1½ Std., *B. ruminatus* in 20', 50' und 25', Normalentfärbungszeit 2¾ Std., *B. robur* in 5', 10' und 3', Normalentfärbungszeit 40'.

Hiernach verminderte länger dauerndes, starkes Erhitzen die Entfärbungszeit der Bakterien. Es würde diese Beobachtung mit der häufig von mir gemachten Wahrnehmung übereinstimmen, daß lufttrockene, mehrere Wochen aufbewahrte Präparate der genannten und anderer Species sich stets in viel kürzerer Zeit entfärben, als frisch angefertigte. Dagegen zeigten mehrere Präparate des *B. subtilis*, welche ich 15' lang bei 60°, 80° und 90° auf dem Trockenbade beließ, keine Abweichung von der normalen Entfärbungszeit. Auch die halbstündige Erhitzung auf 90° änderte nichts an dem Ergebnis. Es scheinen mithin, wie ja auch aus den sehr verschiedenen Verhältniszahlen der Normalentfärbungszeit zu den mit der Erhitzung der Präparate gewonnenen Resultaten hervorgeht, die verschiedenen Species sich individuell gegenüber der Erhitzung zu verhalten.

Um so notwendiger ist es, die Bedingungen konstant zu gestalten. Das 3-malige Durchziehen des Deckglases durch die Gasflamme zur Fixierung bietet jedenfalls keine Gewähr für die vollständige und gleichmäßige Erhitzung.

Ich befolgte daher das von Arthur Meyer (Praktikum. 1903. p. 125) für die Geißelfärbung vorgeschriebene Verfahren. Das Deckgläschen mit dem lufttrockenen Material wurde 5' auf dem Trockenbade bei 40° erwärmt.

D. Einfluß des Farbstoffes. Bei Benutzung von Farbstoffen verschiedener Herkunft, welche als Gentiana- oder Methylviolett geliefert werden, findet man große Schwankungen in dem Farbenton und in der Stärke der Färbung. Jede Farbstofffabrik liefert eine ganze Reihe besonders bezeichneter Arten von Methylviolettfarben, welche bald mehr blau, bald mehr rötlich erscheinen und in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol durchaus nicht gleichwertig sind. Es sind daraufhin 4 verschiedene Farbstoffe von mir vergleichend mit der Gram-Färbung am *B. tumescens* in 80-proz. Alkohol bei 28° geprüft worden:

1) Methylviolett 3 R der Badischen Anilin- und Sodafabrik Ludwigshafen. Das Präparat besaß nach 10' keinen dunklen Farbenton mehr und war größtenteils über die Testfarbe hinaus entfärbt (Fig. 4). Die wenigen Stäbchen, welche die Testfarbe noch hatten, zeigten eine graublau Tönung.

2) Methylviolett 2 B extra der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin SÖ., bezogen von Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein in Marburg. *B. tumescens* war nach 10' grob entfärbt (Fig. 2) und erreichte nach 25' die Testfarbe, die eine schöne violette Färbung aufwies.

3) Methylviolett 5 B der Elberfelder Farbenfabrik, vorm. Bayer & Co. Nach 30' war das Präparat durchgängig noch kräftig gefärbt (Fig. 2). Die Testfarbe zeigte sich erst nach 16 Stunden, während immer noch grob gefärbte Individuen dazwischen lagen. Diese Farbe gab eine ausgezeichnete Tinktion und eine außerordentliche Gleichmäßigkeit der Färbung.

4) Methylviolett B B (vormals Meister & Brünig) der Höchster Farbwerke, bezogen von Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein in Marburg. Die Entfärbung des Präparates tritt innerhalb der als normal bezeichneten Entfärbungszeit zwischen $1\frac{1}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ Stunden ein. Die Farbe hat im allgemeinen einen violetten Ton, der je nach der Species mehr ins Blaue oder Rote überspielt. Bei guter Beleuchtung läßt sie am besten die stufenweise Abtönung in der Entfärbung der Bakterien erkennen, was bei den vortrefflichen Elberfelder Farben ganz ausgeschlossen war.

Aus diesem Grunde habe ich die Farbe der Höchster Farbwerke ausschließlich bei meinen Untersuchungen benutzt.

E. Einfluß der Dauer der Färbung und der Temperatur der Farblösung. 1) Dauer der Färbung¹⁾. *B. tumescens*, nach Gram gefärbt, bei 10' langer Behandlung mit Methylviolett-Anilinwasserlösung bei 80° ist nach $5\frac{1}{2}$ Stunden in 80-proz. Alkohol bei 28° noch grob gefärbt (Fig. 2), erreicht die Testfarbe (Fig. 3) nach 18 Stunden (normal nach $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunden) und hat nach 30 Stunden noch violetten Schein (Fig. 4). *B. Carotarum* in derselben Weise behandelt, wird nach 16 Stunden entfärbt und besitzt die Testfarbe noch nach 24 Stunden. (Normale Entfärbungszeit $2\frac{3}{4}$ Stunden.) *B. subtilis* ist unter denselben Verhältnissen nach 6 Stunden noch nicht entfärbt (Fig. 2) und nach 48 Stunden noch schwach violett gefärbt (Fig. 4). (Normale Entfärbungszeit $2\frac{1}{4}$ Stunden.) Mehrere Präparate des *B. ruminatus* waren bei gleicher Behandlung erst nach 14 Stunden entfärbt und zeigten dauernd in 80-proz. Alkohol bei 28° gehalten noch nach 12 Tagen einen violetten Schein (Fig. 4). (Normale Entfärbungszeit 3 Stunden.) 2) Temperatur. *B. tumescens*, nach Gram gefärbt, unter 2' langem Erhitzen auf 100° hat nach 8 Stunden die Testfarbe noch nicht erreicht und besitzt dieselbe noch nach 23 Stunden. *B. alvei*, welcher sich normal nach 5—6' entfärbt, zeigte bei gleicher Behandlung nach 2 Stunden noch die grobe Färbung (Fig. 2).

In den angeführten Fällen ergibt sich durch die Verlängerung der Farbstoffbehandlung und die Steigerung der Temperatur eine ganz auffallende Zunahme der Entfärbungszeit, die bis zur totalen Entfärbung sich auf Tage und selbst Wochen erstreckt. Bei allen Species ist zugleich die Färbung sämtlicher Oidien eine sehr gleichmäßige. Auch die schwachen, degenerierenden Stäbchen halten den Farbstoff weit zäher fest, als es bei meiner normalen Gram-Färbung der Fall ist. Ich stellte zur Bestätigung dieser Beobachtung mehrfach Parallelversuche und Vergleiche mit alten Kolonien an. Der Farbenton der Oidien war fast durchgehend ein mehr roter.

1) Zu den folgenden Versuchen wurden die Deckglaspräparate in einen Glaszylinder mit Farbstofflösung getaucht, der, durch die Durchbohrung eines Korkes gesteckt, auf dem Wasser des Kochtopfes schwamm.

Diese Beispiele mögen genügen, um den großen Einfluß der Dauer der Färbung und der Temperatur der Farbstofflösung auf die Gram-Färbung zu erläutern.

Auch ohne Jodjodkaliumbehandlung färbt sich *B. tumescens* fast so intensiv als mit derselben. Der Unterschied zwischen beiden Färbungen tritt erst beim Entfärben mit absolutem oder wässrigem Alkohol hervor.

Färbt man z. B. eine 18-stündige Kultur des *B. tumescens* ohne Jodjodkaliumbehandlung mit Methylviolett-Anilinwasserlösung 2' bei 80°, so ist in absolutem Alkohol bei 28° nach 3 Std. 30', in 80-proz. Alkohol bei 28° in 1 Std. 11' die Testfarbe erreicht. (Normale Entfärbungszeit in 80-proz. Alkohol bei 28° 1 $\frac{1}{4}$ —1 $\frac{1}{2}$ Std.).

Erwärmt man *B. sphaericus*, ein normal sich in 1—2' entfärbender Bacillus, ohne Jodjodkaliumbehandlung 2' lang in der Farbstofflösung auf 100°, so ist nach $\frac{1}{2}$ Stunde in 80-proz. Alkohol bei 28° die Testfarbe noch nicht eingetreten. Der Influenzabacillus, ebenso behandelt, zeigte an einzelnen Fäden und Stäbchen noch nach 20' im absoluten Alkohol bei Zimmertemperatur die Testfarbe. Diese Kultur war 8 Wochen alt und hatte währenddem bei 28° gestanden. In einer jüngeren Kultur würde das Ergebnis wahrscheinlich ein noch mehr ausgesprochenes gewesen sein.

Daß die Gramsche Methode, nach welcher das Deckglas mit dem Farbstoff 2' lang über der nicht leuchtenden Flamme des Bunsenbrenners oder über dem Mikrobrenner bis zum Aufsteigen der Dämpfe erwärmt wird, weder Garantie für einen bestimmten und gleichmäßigen Erhitzungsgrad noch für die gleichartige Erwärmung aller Teile des Präparates gewährt, liegt auf der Hand. Wird während des Erwärmens das Deckglas auch nur vorübergehend der Flamme zu sehr genähert, so bakt sich überdies der Farbstoff auf dem Material und dem Deckglas fest. Das Präparat wird unrein und die entfärbende Wirkung des Alkohols beeinträchtigt.

Durch das Verfahren der Färbung, wie ich es oben (Anm. p. 517) angegeben habe, ist sowohl die Einwirkung eines bestimmten Erhitzungsgrades wie die Gleichmäßigkeit der Einwirkung des Farbstoffes auf das Präparat in jeder Weise gewährleistet.

F. Einfluß des Jodjodkaliums. 1) Das Alter des Jodjodkaliums. In gut verschlossenem Gefäße, das nur wenig geöffnet wird, aufbewahrt, verliert das Jodjodkalium wenig an seiner Wirkung. Mit 7 Monate altem Jodjodkalium behandelt, entfärbte sich *B. tumescens* in 80-proz. Alkohol nach 50—60' (normale Entfärbungszeit 1 $\frac{1}{4}$ —1 $\frac{1}{2}$ Stunden), *B. alvei* nach 4' (normale Entfärbungszeit 5—6'). Bei längerem Gebrauch der Lösung unter häufigem Öffnen und unverschlossenem Stehenlassen des Gefäßes nimmt die Wirkung sehr stark ab. Mit einer derartigen Jodjodkaliumlösung behandelt, entfärbt sich *B. tumescens* nach 5—10', *B. alvei* nach $\frac{1}{2}$ '. Meist macht sich die Unbrauchbarkeit des Jodjodkaliums schon äußerlich durch die hellere Färbung wahrnehmbar. 2) Der Einfluß der längeren Einwirkung des Jodjodkaliums. Ein 5' lang mit Jodjodkaliumlösung behandeltes Präparat des *B. tumescens* war nach 2 $\frac{1}{4}$ Stunden langer Entfärbung in 80-proz. Alkohol bei 28° noch grob gefärbt (Fig. 2), ein 10' lang gefärbtes Präparat im ganzen noch dunkler (normale Entfärbungszeit 1 $\frac{1}{4}$ Stunden). Nach 7 Stunden zeigte das erste noch blauen Schein (Fig. 4), das zweite hatte noch die Testfarbe (Fig. 3). Der normal nach

1—2' sich entfärbende *B. sphaericus* war bei 10' langer Behandlung mit Jodjodkalium nach 20' noch nicht bis zur Testfarbe entfärbt und hatte dieselbe noch nach 2 Stunden. 3) Die doppelt konzentrierte Jodjodkaliumlösung: 2 Jod, 4 Jodjodkalium, 300 Wasser. Nach 2' langer Behandlung mit dieser Lösung hat *B. tumescens* in 80-proz. Alkohol bei 28° nach 5½ Stunden noch die grobe Färbung (Fig. 2), nach 15 Stunden die Testfarbe (Fig. 3). Nach 30 Stunden noch durchgängig den blauen Schein (Fig. 4). *B. sphaericus* hat nach 10' langem Aufenthalte in 80-proz. Alkohol bei 28° noch grobe Färbung (Fig. 2), nach 1 Stunde die Testfarbe, nach 48 Stunden blauen Schein (Fig. 4). Der Influenzabacillus hat nach 4 Stunden die Testfarbe, nach 24 und 48 Stunden noch blauen Schein (Fig. 4). Die Wirkung der doppelten Konzentration des Jodjodkaliums ist also derartig, daß dieser bisher nach der Gram-Methode nicht färbbare Bacillus sich so stark färbt, daß die Färbung selbst durch lang andauernde Einwirkung des 80-proz. Alkohols bei 28° nicht beseitigt wird. 4) Der Einfluß der Erwärmung des Jodjodkaliums. Erwärmt man die normale Jodjodkaliumlösung in einem Porzellanschälchen und legt die mit Methylviolett-Anilinswasserlösung gefärbten Präparate mit der Materialseite auf die Flüssigkeit, so wird man in der Regel noch vor dem Dampfaufsteigen einen plötzlichen Umschlag des violetten Schimmers des Präparates in schwarzbraun beobachten. Die Präparate sind dann auf das intensivste nach Gram gefärbt. Die schwer färbbaren und leicht entfärbbaren Bacillen *alvei* und *sphaericus* hatten auf diese Weise behandelt und in 80-proz. Alkohol von 28° gelegt, die Testfarbe nach 48 Stunden noch nicht erreicht und zeigten sich größtenteils noch grob gefärbt (Fig. 2).

Von den bisher nach Gram nicht färbbaren Bakterien färbten sich auf diese Weise von nicht pathogenen Species: *Spirillum volutans* und *Pseudomonas*; von pathogenen: *B. typhosus*, Influenzabacillus, *B. der Septicaemia haemorrhagica*, die Spirochaete des Recurrensfiebers, *B. pyocyaneus*, *B. coli commune*; der *B. typhosus* und *B. coli commune* nur nach ganz kurzem Erwärmen in Jodjodkalium.

Der Bacillus der Septicaemia haemorrhagica war in 100-proz. Alkohol bei 28° noch nach 4 Tagen unverändert. Der Influenzabacillus behielt in 100-proz. Alkohol bei Zimmertemperatur die Färbung in kaum merkbarer Schwächung bis zu 7 Wochen, wo ich ihn zuletzt nachsah.

Die pathogenen Bakterien verdanke ich dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Prof. Bonhoff vom hiesigen hygienischen Institute.

Es steht zu erwarten, daß auch die übrigen bisher nicht nach Gram gefärbten, mir nicht zur Verfügung stehenden Bakterien sich auf diese Weise färben lassen, wenn zugleich der Auswahl eines intensiven Farbstoffes und der nach Temperaturgraden zu regelnden Erhitzung der Farbstofflösung Rechnung getragen wird.

Das Aufkochen der Bakterien in der Jodjodkaliumlösung ist im allgemeinen zu vermeiden. Einzelne Species, *B. alvei* und *sphaericus*, ertragen selbst längeres Kochen, ohne eine raschere Entfärbung zu zeigen. Andere dagegen, wie z. B. *B. megatherium* und *B. silvaticus*, erleiden eine starke Herabsetzung der Entfärbungszeit bis auf 5—10'.

G. Einfluß der längeren Aufbewahrung des zu färbenden Materials. Gelegentlich der Besprechung des Einflusses der Fixierung (C) wurde schon bemerkt, daß mehrere Tage lang aufbewahrte, lufttrockene Deckglaspräparate kürzere als die normalen Entfärbungs-

zeiten ergaben. Es gilt dies von *B. tumescens* und *B. ruminatus*. An *B. subtilis* dagegen konnte ich eine bemerkenswerte Abweichung des bis 6 Tage lang aufbewahrten Deckglaspräparates nicht feststellen. Es scheinen demnach auch hier individuelle Verschiedenheiten aufzutreten. Ebenso wirkt längeres Liegen des Stäbchenmaterials in Wasser auf die Färbbarkeit ein. So entfärbten sich z. B. Präparate des *B. megatherium* und des *B. silvaticus* von Stäbchenmaterial, das 6 Tage im Wasser gehalten war, innerhalb 5—10'. Sie verlängerten die Entfärbungszeit auch nicht nach Erhitzen der Jodjodkaliumlösung. Nach 2-tägigem Aufenthalte im Wasser machte sich noch kein Unterschied von der normalen Entfärbungszeit bemerkbar.

Die Entfärbungsdauer für die Gram-Färbung, „Gram-Dauer“ der verschiedenen Species.

Vergegenwärtigt man sich auf Grund der vorstehenden Untersuchungen die große Zahl der einzelnen oft unscheinbaren Einflüsse, welche die Gram-Färbung bestimmen, deren Wirkung aber durch die Intensität der Färbung unter dem Mikroskop anfänglich verdeckt wird und erst durch die allmähliche Einwirkung des entfärbenden Alkohols in die Erscheinung tritt, so wird es erklärlich, daß auch bei genauer Innehaltung der von mir oben gegebenen Methode die Entfärbungszeit bis zu der als Testfarbe bezeichneten Grenze nicht absolut die gleiche sein kann, sondern sich nur innerhalb gewisser Schranken bewegt. Diese Schranken blieben aber für die einzelnen Species konstant. Bisweilen trat an mehreren hintereinander angefertigten Präparaten die Testfarbe sogar zu genau derselben Zeit ein. Ausnahmsweise nur kam es vor, daß aus mir nicht erklärlichen Ursachen eine Kultur ein und derselben Bacillenspecies auffallend kürzere Entfärbungszeiten als die normal ermittelte hatte. Bei Benutzung einer anderen Kultur traten dann die früheren Ergebnisse wieder ein. Es empfiehlt sich daher, zur Feststellung der Gram-Dauer wenigstens 2 Entfärbungen mit Material verschiedener Kulturen vorzunehmen und bei eintretender Verschiedenheit noch einige Kulturen zu untersuchen. Ich gebe hier die Gram-Dauer einiger sporenbildender Bakterien wieder, wie ich sie mit je 3 Entfärbungen ermittelte, nachdem vorher die Entfärbungszeit jeder Species im allgemeinen festgestellt war:

	1. Präparat	2. Präparat	3. Präparat
<i>B. megatherium</i> Heinze	40'	42'	45'
<i>B. tumescens</i>	1 Std. 15'	1 Std. 30'	1 Std. 15'
<i>B. robur</i> A. M. et N.	35'	45'	35'
<i>B. lacticola</i> A. M. et N.	1 Std. 15'	1 Std. 5'	55'
<i>B. lactis</i> Flügge	1 Std. 30'	1 Std. 35'	1 Std. 30'
<i>B. silvaticus</i> A. M. et N.	30'	45'	40'
<i>B. sphaericus</i> A. M. et N.	1 $\frac{1}{2}$ '	2'	1'
<i>B. alvei</i> Krompecher	$\frac{7}{8}$ '	4'	6'

Die in der Gram-Dauer sich nahestehenden Bacillen haben auch morphologische, biologische und physiologische Aehnlichkeiten, wie *B. megatherium* und *silvaticus*, *B. lacticola* und *lactis* Flügge, *B. sphaericus* und *alvei*.

3 Monate nach Abschluß meiner Untersuchungen prüfte ich die vorstehenden Ergebnisse noch einmal an *B. tumescens*, *B. megatherium* und *B. sphaericus* mit Kulturen nach, welche von 4—5 Monate altem Sporenmaterial angelegt waren. *B. tumescens* erreichte die

Testfarbe nach 1 Std. 30', *B. megatherium* nach 40', *B. sphaericus* nach 2 $\frac{1}{4}$ '. Die Ergebnisse waren mithin die gleichen, wie vorstehend.

Für die allgemeine Anwendung der Entfärbungszeit als Speciesdiagnose könnte meines Erachtens vielleicht nur die Beschaffung des von mir benutzten Farbstoffes (Methylviolett B B der Höchster Farbwerke) Schwierigkeiten bereiten. Doch läßt sich durch Ausprobieren verschiedener Farbstoffe an den von mir benutzten Species ein gleich wirkender Farbstoff wohl später immer wieder erlangen. Jedenfalls würde dann die Methode wenigstens zur sicheren Unterscheidung von sehr Gram-festen und sehr leicht entfärbbaren Species dienen können und ich denke, daß meine Untersuchungen auch für die Charakterisierung kaum sporenbildender pathogener Species von Nutzen sein werden.

Literatur.

Czaplewski, Bemerkungen zur Gramschen Methode der Bakterienfärbung. Eine zweckmäßige Nachfärbung zur Gramschen Methode. (Hygien. Rundschau. 1896.) — Flügge, C., Die Mikroorganismen. 1896. — Gottheil, Otto, Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. VII. 1901.) — Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902.) — Hijmanns van den Berg, Ueber das Verhalten des Gonococcus zur Gramschen Färbemethode. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896.) — Kutscher, Ein Beitrag zur Kenntnis der bacillären Pseudotuberkulose der Nagetiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894.) — Marx u. Writhe, Morphologische Untersuchungen zur Biologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. 1900.) — Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903. — Mills, Meningite à pneumocoques. (Referat in Baumgartens Jahresberichten. 1892.) — Paltauf, Zur Aetiologie des Skleroms des Rachens, des Kehlkopfes, der Luftröhre und der Nase. (Wiener klin. Wochenschr. 1891 u. 1892.) — Schmidt, Zur Kenntnis der Bakterien der Säugetierfaeces. (Wiener klin. Wochenschr. 1892.) — Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländers und verwandte Bakterien. Inaug.-Diss. Bonn, 1896.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Ursprüngliche Gram-Färbung. Fig. 2. Grob entfärbt. Fig. 3. Testfarbe oder entfärbt. Fig. 4. Violetter oder blauer Schein. Fig. 5. Total entfärbt.

Nachdruck verboten.

Das Agglutinoskop, ein Apparat zur Erleichterung der makroskopischen Beobachtung der Agglutination im Reagenzglas.

Von Prof. Dr. H. Jaeger, Generaloberarzt in Straßburg i. E.

Mit 1 Figur.

Den Apparat, welchen ich hier beschreiben werde, habe ich in meiner Arbeit über die Artbestimmung der Meningokokken durch Agglutination¹⁾ skizziert, wie folgt: „Das Prinzip dieses Beleuchtungsapparates besteht darin, daß eine künstliche Lichtquelle (elektrische Glühlampe), dem Beobachter durch einen schwarzen Schirm verborgen, ihre Licht-

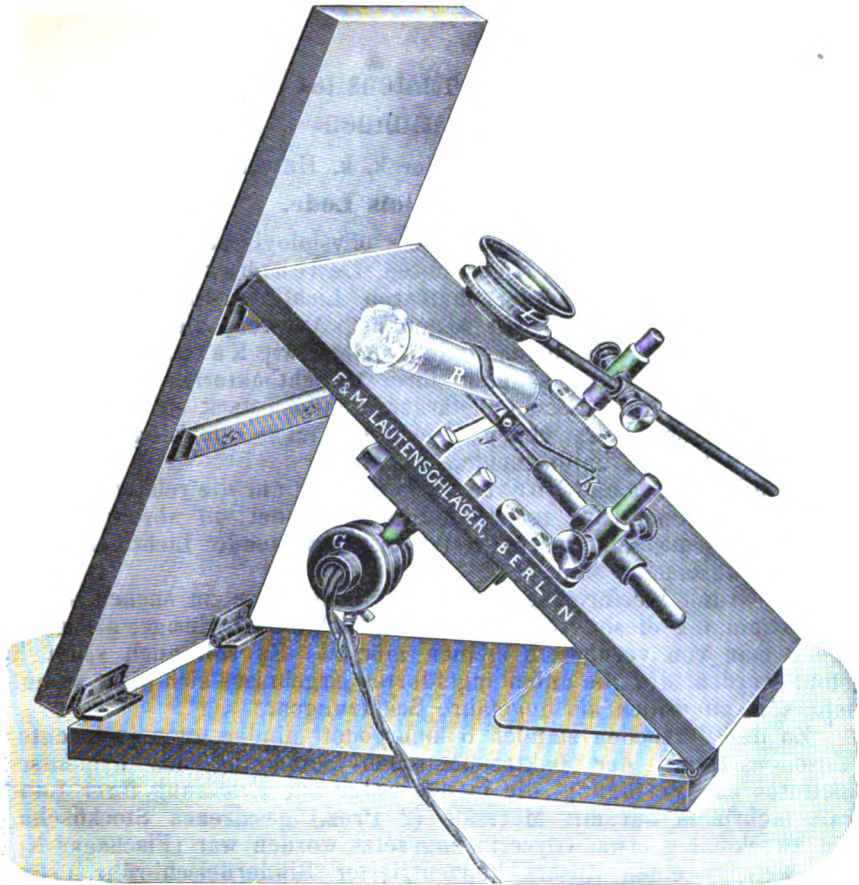
1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd XLIV. 1903.

strahlen nur durch einen schmalen Schlitz auf das die Agglutinationsprobe enthaltende Reagenzglas werfen kann. Diese Lichtstrahlen werden von den Bakterienklümpchen reflektiert, und diese erscheinen so in ähnlich scharfer Beleuchtung, wie beispielsweise die Sonnenstäubchen in dem Lichtstrahl, der in ein sonst verdunkeltes Zimmer fällt. Dieser Beleuchtungsapparat macht den Beobachter unabhängig von dem wechselnden und oft sehr ungenügenden Tageslicht, auch ermöglicht er die Demonstration der Erscheinung der Agglutination bei Vorträgen, und schließlich ist die Stärke der Beleuchtung eine konstante und einheitliche, es wird dadurch auch die Beurteilung der Resultate an Einheitlichkeit gewinnen.“

Die Kochsche Schule lehrt im allgemeinen bei der Prüfung der Agglutination, möglichst der Beobachtung mit dem bloßen Auge den Vorzug zu geben vor der mikroskopischen; „je stärker die Vergrößerung, desto größer die Gefahr der Täuschung“. Diejenige Agglutination aber, welche sich schon dem bloßen Auge deutlich erweist, ist eine unbestreitbare. Aber diese makroskopische Beobachtung hat ihre Unbequemlichkeiten: Man hält das Reagenzglas fast horizontal über sich und gegen das Fenster und sieht nun die agglutinierten Bakterienbröckchen in der im Reagenzglas sich flach ausbreitenden Flüssigkeit schwimmen. Auch hier handelt es sich für uns darum, die durch diese Klümpchen nach unten abgelenkten Lichtstrahlen mit unserem Auge aufzufangen. Aber bei trübem Wetter ist der Reflex, welchen die Bakterienklümpchen geben, ein so geringer, daß er gegen das diffuse Tageslicht nicht mehr absticht, und so verliert die ohnehin etwas unerfreuliche Beobachtungsart an Exaktheit, sie erhält etwas Subjektives; auch der Refraktionszustand der Augen des Beobachters spricht da wesentlich mit.

Der Apparat vermag durch Schaffung einer stets hinreichend starken und kontrastreichen Beleuchtung diese Mißstände zu beseitigen. Derselbe besteht aus drei durch Scharniere verbundenen Brettern aus schwarzem Holz, welche dachförmig gegeneinander geklappt werden, so jedoch, daß das eine den so gebildeten Dachfirst noch um etwa Handbreite überragt. Dieses Holzgestell wird so auf den Tisch gestellt, daß der überragende Teil für den Beobachter einen Lichtschirm gegen das Tageslicht bildet, wenn er auf die pultartig vor ihm ansteigende Fläche blickt. In dieser Pultfläche befindet sich ein quer verlaufender 3 mm breiter Schlitz (*S*), annähernd von der Länge eines Reagenzglases. Eine unter diesem mit der Schlitzöffnung versehenen Brett angebrachte elektrische Glühlampe (*L*) läßt ihr Licht durch den Schlitz heraustreten. Sie ist länglich cylindrisch gestaltet und ihre Längsrichtung ist parallel mit dem Schlitz angeordnet. Eine Schlittenvorrichtung ermöglicht so viel Verschiebung der Lampe, daß sie entsprechend dem Neigungswinkel der Pultfläche stets in die richtige Stellung gebracht werden kann. Diese ist darin charakterisiert, daß der Beobachter die Lampe nicht sehen und durch keine Reflexe geblendet werden soll.

Hält man nunmehr das Reagenzglas (*R*) mit der auf Agglutination zu untersuchenden Flüssigkeit in schräger, fast horizontaler Lage so vor den von unten her beleuchteten Schlitz, daß dieser die Flüssigkeit in möglichster Ausdehnung erhellt, so sieht man selbst die feinsten Klümpchen scharf beleuchtet in der Flüssigkeit sich abheben. Ist keine Agglutination vorhanden, so erscheint auch in diesem grellen Lichtstrahl, der



die milchig getrübte Flüssigkeit durchdringt, nicht die geringste Klümpchenbildung, vielmehr erweist sich dieselbe völlig homogen.

Links neben dem Schlitz befindet sich eine in jeder Stellung fixierbare Klammer (*K*) für das Reagenzglas; rechts ist in derselben Weise eine Lupe (*K_p*) angebracht. Der Apparat wird von Gebr. F. u. M. Lautenschläger in Berlin angefertigt.

Nachdruck verboten

Versuche, die optische Lichtintensität bei Leuchtbakterien zu bestimmen.

[Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.]

Von Prof. Alois Lode.

Trotz veröffentlichter ausgedehnter physiologischer und biologischer Untersuchungen über die sogenannten Leuchtbakterien sind mir Messungen der optisch wahrnehmbaren Lichtintensität derselben bei Durchsicht der Literatur nicht begegnet. Autoren, die mehrere Arten phosphoreszierender Mikroben studiert haben, wie Katz, Fischer u. a., vergleichen die Lichtintensitäten ihrer Leuchtbakterien untereinander durch Ausdrücke wie: Leuchtet stärker, weniger stark etc. oder es wird als Ausdruck besonders hohen Leuchtvermögens die Möglichkeit, den Stand einer Uhr zu unterscheiden, angeführt.

Auch Fischer und Forster¹⁾ verglichen nur die relative Intensität der durch ein Spektrum zerteilten Strahlenbündel; in absoluten Maßen aber scheint die auf unsere Netzhaut einwirkende Lichtmenge nicht bestimmt worden zu sein.

Der Grund hierfür mag wohl vorwiegend darin zu suchen sein, daß die Bestimmung dieser Helligkeit unvergleichlich schwieriger auszuführen ist, als man von vornherein meinen möchte. Es soll auch schon hier betont werden, daß die unten angeführten Ergebnisse sich nicht anmaßen, mehr sein zu wollen als ungefähre Schätzungen.

Zu den Versuchen standen 6 mehr oder minder intensiv leuchtende Vibrationenstämmen der bakteriologischen Sammlung des hygienischen Institutes zur Verfügung, die in der Folge zur Erhöhung ihrer Leuchtkraft mehrmals auf mit Meersalz (2 Proz.) gesalzenes Stockfischagar, dem zweckmäßig etwas Glycerin zugesetzt worden war (Fischagar No. 1) oder welches einen Zusatz konzentrierter Rinderfleischbrühe erhalten hatte (Fischagar No. 2), übertragen worden waren²⁾.

Die mehrfach veränderte Technik der Lichtmessung gestaltete sich schließlich folgendermaßen:

In Anbetracht der geringen Lichtintensität der Leuchtbakterien im Vergleiche mit den gewöhnlich zur Messung gelangenden Lichtquellen, konnte an die Anwendung der gebräuchlichen Photometer ohne besondere Versuchsanordnung nicht gedacht werden.

Diese mußte mehrfach verändert werden und lieferte erst in der folgenden Anordnung leidlich übereinstimmende Messungen. Das angewendete Photometerprinzip war das von Bunsen angegebene.

Die Aussaaten der Leuchtbakterien wurden auf das Nähragar gemacht, welches in einer Menge von je 20 ccm in Petri-Schalen ausgegossen worden war. Um möglichst große oberflächliche Kolonien zu erhalten,

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. II. No. 12. p. 339.

2) Fischagar No. 1: 100 g getrockneter Stockfisch wird mit 700 ccm Wasser im Dampfe durch 4 Stunden gekocht und filtriert. Zum Filtrate kommen 300 ccm 1% Agar im Dampftöpfe gelöst, 10 g Pepton Witte, 20 g Meersalz. Mit Rosolsäure als Indikator wird leicht alkalisiert. Hierauf Klärung, Filtration. Zu je 10 ccm Agar kommen 0,2 ccm Glycerin. Fischagar No. 2 wird wie No. 1 bereitet; nur Stockfischbouillon und konzentriertes Fleischwasser (1 kg Rindfleisch zu 1000 ccm Wasser) zu gleichen Teilen als Stammflüssigkeit angewendet.

wurde zentral mit der Oese Impfmateriale aufgetragen und die Schalen im Brutschrank aufbewahrt. Um Kondenswasserbildung hintanzuhalten, wurden die Platten nach dem Ausgießen vor der Impfung durch einen Tag im Brutofen getrocknet und nach der Impfung in feuchte Kammern eingestellt. Als feuchte Kammern dienten größere Schalen, in welchen neben den beimpften Platten eine mit dünner Sublimatlösung halbgefüllte Petri-Schale sich befand. Man erhält hierdurch meist ziemlich regelmäßige kreisförmige Kolonien, deren Flächeninhalt nach Messung des Durchmessers genügend genau berechnet werden kann.

Hinsichtlich Wachstumstemperatur und Zeit wurde mehrfach variiert.

Waren die Kolonien gut entwickelt und zeigten sie eine befriedigende Phosphoreszenz und war vor allem die Leuchtkraft der ganzen Fläche eine scheinbar gleichmäßige, so wurden sie zur Lichtmessung verwendet.

Hierzu wurden die Petri-Schalen mit der leuchtenden Kolonie vertikal mittels eines Blechbandes in ein Stativ gespannt. Das Abrutschen der Agarmasse von dem Schalenboden vermeidet man leicht, wenn man auf die Agarfläche ein schwarzes Kartonpapier, das einerseits genau an die Schalenperipherie angepaßt ist und andererseits einen die Kolonie freilassenden Ausschnitt trägt, anpreßt.

Vor der Agarebene wurde ebenfalls vertikal mit Hilfe eines zweiten Statives der Blechring fixiert, der das Bunsensche Fettfleckpapier trägt. Um dieses der Kolonie nach Bedarf sehr nahe zu bringen, muß der Blechring einen geringeren Durchmesser haben als die Petri-Schale.

Als Vergleichsflamme konnte wegen ihrer zu großen Intensität und der geringen Größe des Dunkelraumes nicht die Paraffin-Normalkerze gewählt werden. Hierzu diente eine 10-kerzige Glühlampe, welche in ein absolut lichtdichtes Gehäuse, das auf einer Latte verschoben werden konnte, eingeschlossen worden war. Das Licht der Glühlampe wurde durch eine dicke Milchglasplatte gedämpft und durch eine in den Gehäuseausschnitt lichtdicht eingelassene Irisblende regulierbar verdunkelt. Die Intensität des Vergleichslichtes wurde mittels einer deutschen Normalparaffinkerze vor und nach jeder Messung ermittelt und nur jene Messungen verwertet, bei welchen sich die Intensität des Vergleichslichtes nicht verändert hatte. Die Lichtintensität der Normalkerze wurde mit Hilfe eines Weberschen Photometers ermittelt. Es ergab sich eine Intensität von 1,22 Hefner-Kerzen.

Durch die Einschaltung des Vergleichslichtes, welches den Raum nur sehr geringfügig erhellte, war es auch möglich, den Fehler der ungleichen Lichtabsorption des geölten und nicht geölten Papieranteiles zu eliminieren und das Verschwinden des Fetttringes bei allen Messungen stets von der gleichen Seite zu beobachten.

Die größte Schwierigkeit bietet die Feststellung jenes Punktes, bei welchem das Verschwinden des Fettflecks eben in Erscheinung tritt. Als Vorbedingung muß ein vollständig lichtdichter Verschluß des Arbeitszimmers, eine erst durch längeren Aufenthalt im Dunkelraume erzielbare Anpassung des Auges an die Dunkelheit und eine gewisse Übung in der Ablesung bezeichnet werden, die man erst nach einigen Versuchen erwirbt. Ueberdies müssen die Messungen, wenn sie ein verwertbares Resultat ergeben sollen, mit derselben Kultur mehrfach wiederholt und übereinstimmend befunden werden.

In der folgenden Tabelle finden sich die Ergebnisse von 5 Messungen verzeichnet, von denen 2 mit Kolonien angestellt wurden, die auf ge-

wöhnlichen Fleischwasserpeptonnährböden gezüchtet worden waren. Die 3 weiteren Resultate beziehen sich auf Messungen mit Kulturen auf Fischagar. Die Zahlen der 3. und 4. Reihe beziehen sich auf die deutsche Normalparaffinkerze, die der 5. und 6. Reihe auf die Hefnersche Lichteinheit.

Nochmals sei hervorgehoben, daß die Messungen in Anbetracht der Schwierigkeit der Technik wenig Anspruch auf absolute Genauigkeit stellen können.

Vibrionenart	Durchmesser der Kolonie	Intensität der Vergleichslichtquelle in deutschen Normalkerzen	Lichtintensität der Kolonie in deutschen Normalkerzen	Lichtintensität der Kolonie in Hefnerscher Lichteinheit	Lichtintensität bezogen auf 1 qmm der Kolonie
Vibrio Elvers (Fleischwasserpepton- agar 24 Stdn. 37° C)	0,9 ccm	0,000 155 3	0,000 000 056 5	0,000 000 068 9	0,000 000 000 076 6
Vibrio Rumpel (Fleischwasserpepton- agar 2 Tage 21° C)	0,8 ccm	0,000 155 3	0,000 000 020 049	0,000 000 024 46	0,000 000 000 030 6
Vibrio Elvers (Stockfischagar No. 1 24 Stdn. 37° C)	0,9 ccm	0,001 82	0,000 000 262	0,000 000 319 6	0,000 000 000 355
Vibrio Rumpel (Stockfischagar No. 2 24 Stdn. 37° C)	2,0 ccm	0,001 833	0,000 001 287 8	0,000 001 57	0,000 000 000 785
Vibrio Rumpel „tbc“ (Stockfischagar No. 2 24 Stdn. 37° C)	2,1 ccm	0,001 833	0,000 001 217	0,000 001 48	0,000 000 000 707

Die gewonnenen Zahlen sind allerdings so klein, daß man sich keine Vorstellung von dem erhaltenen Lichteffekte im Vergleich zu geläufigen Intensitäten machen kann. Am besten dürfte dies noch gelingen, wenn man versucht sich zu berechnen, wie groß die Kolonieenfläche sein müßte, welche eine bekannte Lichtmenge, etwa die einer Normalkerze, ausstrahlt.

Wenn wir diese Rechnung an der Hand des günstigsten Ergebnisses, welches wir beim *Vibrio Rumpel* (Züchtung auf Stockfischglycerinagar) erhalten hatten, durchführen, so ergibt sich:

$$\begin{aligned} \text{Lichtintensität pro qmm} &= 0,000\ 000\ 000\ 785 \text{ Hefner-Kerzen} \\ \text{daher pro qm} &= 0,000\ 785 \text{ Hefner-Kerzen} \\ \text{daher pro 1000 qm} &= 0,785 \text{ Hefner-Kerzen} \\ &= 0,562 \text{ deutsche Normalparaffinkerzen.} \end{aligned}$$

Es liefern demnach erst rund 2000 qm leuchtender Koloniefläche die Helligkeit einer deutschen Normalkerze oder die doppelte bis 3-fache Anzahl Quadratmeter die Helligkeit einer gewöhnlichen Stearinkerze. Ein Raum mit etwa 5000 qm Wandfläche muß aber schon bei einer Höhe von 10 m 500 m Umfang haben. Die Welt verfügt nur vereinzelt über Räume von diesen Dimensionen. Die Innenwände der Peterskirche in Rom bis zu einer Höhe von 10 m (ungefähre Höhe eines 2-stöckigen Hauses) leuchtend gedacht, würden wenig mehr Licht ausstrahlen als eine gewöhnliche Stearinkerze.

Ein mittleres Zimmer weist bei einer Höhe von 3 m etwa 50 qm

Wandfläche auf. Diese Fläche als eine mächtige Kolonie des *Vibrio Rumpel* gedacht, würde erst 0,039 deutsche Normalparaffinkerzen-Helligkeit ergeben. Man bekommt erst hierdurch einen ungefähren Begriff, was für die Beleuchtungstechnik von dem Lichte der Leucht-bakterien, der „*Lumière vivante*“ der Franzosen, zu erwarten ist, wobei wir natürlich gerne zugeben, daß durch eine veränderte Züchtungstechnik und durch Auswahl heller leuchtender Mikrobien eine Steigerung des Lichteffektes erzielbar wäre.

Dubois Raphael (Compt. rend. de l'acad. des scienc. T. CXXXI. 1900. p. 476) äußert sich übrigens selbst über den Effekt der *Lumière vivante* recht bescheiden. Er sagt ungefähr: Man ist in der Lage, einen Saal genügend stark zu erhellen, um die Gesichtszüge der Personen auf mehrere Meter Distanz zu erkennen, eine Schrift, eine Uhr abzulesen, wenn das Auge nicht vom Tageslichte geblendet ist, also insbesondere des Abends oder nach einem Aufenthalte in einem finsternen oder schwach beleuchteten Raume.

Nachdruck verboten.

Ein einfaches Verfahren, Nähragar ohne Filtration zu klären.

Von Privatdozent Dr. Hugo Fischer, Bonn.

Bekanntlich ist es eine langwierige Sache, Agar gut zu filtrieren, auch geht dabei meist ziemlich viel Substanz verloren. Ich verfare nun in folgender Weise: Ein oder mehrere Glasrichter von entsprechender Größe werden an der Stelle, wo der Konus in das Rohr übergeht, mit einem Kork dicht verstopft, in einen Eisenring gestellt, so daß sie nicht leicht das Gleichgewicht verlieren, und die kochend heiße Agarlösung hineingegossen. Nun werden die Trichter bedeckt und kühl gestellt, einmal um das Erstarren zu beschleunigen, sodann um Vermehrung etwa vorhandener Keime hintanzuhalten. Nach einigen Stunden, eventuell am anderen Morgen ist die Masse hinreichend erstarrt und alle Trübungen haben sich zu Boden gesetzt bezw. haften oben am Trichter-rand. Der Trichter wird nun umgestülpt, worauf die Masse, nötigenfalls mit etwas Nachhilfe mit einer Messerklinge, herausfällt; dieselbe wird in der (sc. frisch gewaschenen) Hand oder einer Schale aufgefangen, von den ausgeschiedenen Trübungen mit dem Messer befreit, im Becherglas geschmolzen und in die Kulturröhrchen eingefüllt. So behandelter Agar ist für weitaus die meisten Zwecke klar genug; will man ihn noch filtrieren, so gelingt das nach Entfernung der größten Trübungen bei weitem leichter als vorher.

Für Gelatine eignet sich das Verfahren leider nicht, da diese am Glase haftet und weit schwieriger absetzt.

Vielleicht findet sich eine Glasfabrik bereit, für obigen Zweck geeignete konische Gefäße — das Trichterrohr ist ja überflüssig — von $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und 1 l Inhalt herzustellen.

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

Inhalt.

- Bonhoff, H.**, Erwiderung auf die Bemerkungen der Herren Albrecht und Ghon zu meiner Notiz: „Zum Streit um den Meningococcus“, p. 440.
- Dschunkowsky, E. u. Luhs, J.**, Die Piroplasmosen der Rinder, p. 486.
- Engels**, Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz: „Ueber die Trinkwasserdesinfektion mit Jod nach Vaillard“ von Gust. Obermaier, Militärapothecker, p. 506.
- Fischer, Hugo**, Ein einfaches Verfahren, Nähragar ohne Filtration zu klären, p. 527.
- Jaeger, H.**, Das Agglutinoskop, ein Apparat zur Erleichterung der makroskopischen Beobachtung der Agglutination im Reagenzglas, p. 521.
- Klein, E.**, Ein neuer tierpathogener Mikrobe — *Bacillus carnis*, p. 459.
- Lignières, J. et Spitz, G.**, Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose. (Schluß.), p. 452.
- Lode, Alois**, Versuche, die optische Lichtintensität bei Leuchtbakterien zu bestimmen, p. 524.
- Loeffler, F.**, Robert Koch, p. 401.
- Luerssen, Arthur**, Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus, p. 434.
- Macfadyen, Allan and Rowland, Sydney**, Ueber die intracellulären Toxine gewisser Mikroorganismen, p. 415.
- Morgenroth, J.**, Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren, p. 501.
- Neide, E.**, Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose, in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gram-Färbung in Betracht kommenden Faktoren, p. 508.
- Petrie, G. F.**, A note on the occurrence of a Trypanosome in the rabbit, p. 484.
- Plehn, Marianne**, *Bacterium cyprinica* nov. spec., der Erreger der Rotseuche der karpfenartigen Fische, p. 461.
- Preiss, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). (Forts.), p. 416.
- Simon, F. B.**, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. (Schluß.), p. 440.
- Steiger, Paul**, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege. (Forts.), p. 467.
- Taniguchi, N.**, Ueber *Filaria Bankrofti* Cobbold, p. 492.

Nachdruck verboten.

Ueber ein rotzähnliches Bakterium beim Menschen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn.]

Von Dr. med. **Hugo Selter**, Assistent des Institutes.

Aus der hiesigen chirurgischen Poliklinik wurde in das Institut Eiter zur Untersuchung gesandt, aus dem es mir gelang, ein interessantes Bakterium zu isolieren. Der Eiter entstammte einem rezidivierenden Absceß an der Zunge eines älteren Mannes. Der Absceß konnte zuerst einen Tumor vortäuschen. Der Absceß wurde inzidiert, wobei sich ein schleimiger Eiter entleerte, und heilte hiernach ohne weitere Störungen des Allgemeinbefindens aus. Eine Ursache für diese Erkrankung wußte der Patient nicht anzugeben.

Bei der sofortigen mikroskopischen Untersuchung konnten weder Eiterkokken noch sonst Bakterien nachgewiesen werden.

Bei der kulturellen Untersuchung waren nach 24 Stunden auf der Agarplatte ziemlich spärlich kleine, helle Kolonien zu sehen, die sich als Reinkultur der im folgenden genauer beschriebenen Bakterien herausstellten. Auf der Agarplatte waren nur diese Bakterien gewachsen, keine Kokken, so daß ich gleich veranlaßt war, diese gefundenen Bakterien in ätiologischen Zusammenhang mit dem Zungenabsceß zu bringen.

Es waren kleine Stäbchen, ca. $0,2 \mu$ breit und 4—5mal so lang, unbeweglich, allerdings mit sehr lebhafter Molekularbewegung. Auf schräg erstarrtem Glycerinagar waren nach 24 Stunden, noch ausgesprochener nach einigen Tagen, die meisten Bakterien zu langen durcheinandergeschlungenen, homogenen, aber unverzweigten Fäden ausgewachsen. Sporen werden nicht gebildet. Die Bakterien lassen sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben nur schlecht färben; am besten noch mit verdünnten Karbolfuchsinlösungen, die man längere Zeit einwirken läßt. Auch hierbei nehmen die Bakterien die Farbe nicht gleichmäßig an, besonders die langen Fäden; man sieht in demselben Faden intensiv gefärbte Stücke neben schwach gefärbten. Die Gramsche Reaktion war negativ.

Die Weiterzüchtung der Bakterien gelang leicht, nachdem sie einmal isoliert waren. Sie wachsen am besten bei 37° , doch auch gut bei 22° . Ihr Wachstum ist ausgesprochen aërob. Die Kolonien auf Agar sind nach 24 Stunden matt weiß und nehmen nach weiteren 24 Stunden einen leicht bräunlichen Farbenton an. Die Strichkulturen auf Agar sind schon nach 24 Stunden bei 37° üppig längs des Impfstriches gewachsen. Die Kultur breitet sich nicht viel über den Impfstrich aus und ist von einer eigentümlich zähen schleimigen Beschaffenheit, so daß es nur schwer gelingt, mit der Platinnadel Teile abzulösen. Mikroskopisch besteht die Kultur fast nur aus langen durcheinander geschlungenen Fäden.

Auf Gelatine ist das Wachstum bei 22° ebenfalls ein gutes. Die Kolonien auf der Platte sind klein, glänzend, mit gleichmäßigem Rand, sie werden nach einigen Tagen dunkler, ohne sich weiter auszubreiten. Im Gelatinestich ist das Wachstum nur oben üppig. In Wochen oder Monate alten Kulturen tritt nur sehr unbedeutende trichterförmige Erweiterung der Gelatine ein. Auf diesem Nährboden wachsen die Bakterien nicht zu langen Fäden aus.

Auf erstarrtem Hammelblutserum findet üppiges Wachstum statt. Die Kultur ist milchig weiß, wenn älter leicht bräunlich und hat, ähnlich der Agarstrichkultur, eine zähe, schleimige Beschaffenheit.

Auf Kartoffeln ist nach 24 Stunden nur ein schwaches Wachstum zu bemerken. Nach mehreren Tagen wird ein ziemlich dicker schokoladenbrauner Ueberzug gebildet, der auf den Impfstich beschränkt bleibt.

In Traubenzuckeragar, der mit Lackmus versetzt ist, wird weder Gas noch Säure gebildet.

Bouillon wird nicht gleichmäßig getrübt. Man bemerkt nach 24 Stunden am Rande der Oberfläche einen weißen Ring und eine zarte Decke. Später sieht man fädige Gebilde von der Oberfläche nach dem Boden zu sich entwickeln. Allmählich wird die ganze Bouillon getrübt und ein weißes Sediment abgesetzt, das sich beim Schütteln nur schlecht und nicht vollkommen verteilen läßt. Indol wird nicht gebildet.

In Milch wird nach längerer Zeit (8 Tage) etwas Säure erzeugt, aber lange nicht so viel, daß eine Gärung einträte.

Die Bakterien waren für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen bei subkutaner und intraperitonealer Injektion nicht virulent. Bei Kaninchen wurden zwar bei subkonjunktivaler Impfung Abscesse hervorgerufen, die einen zähen, schleimigen Eiter enthielten, aber daraus züchten ließen sich die Bakterien nicht wieder.

Bei der Frage, zu welcher Gruppe von Bakterien die hier gefundenen zu rechnen sind, drängt sich vor allem die Aehnlichkeit mit der Gruppe des Rotzbacillus auf. Seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften sind im wesentlichen dieselben. Nach der letzten Beschreibung des Rotzbacillus bei Wladimiroff (1) soll allerdings Milch zur Gerinnung gebracht werden, und zwar mit neutraler Reaktion, ohne weitere Pepton- und Labbildung (?). Bei meinen Bakterien war wohl etwas Säure, doch keine Gerinnung nachzuweisen. Auf die Indolbildung ist wohl kein erhebliches Gewicht zu legen, da die Angaben darüber schwanken (vergl. Kruse in Flüggés Mikrogamen), doch sonst bietet der hier gefundene Bacillus viele übereinstimmende Merkmale mit dem Rotzbacillus, die Größe, unregelmäßige Färbbarkeit, die Bildung von langen Fäden auf einzelnen Nährböden, die auch gelegentlich bei Rotz beobachtet wird, Nichtfärbbarkeit nach Gram, das langsame trichterförmige Erweichen der Gelatine, die braune Farbstoffbildung auf Kartoffeln. Ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal ist die bei meinen Bakterien fehlende Virulenz für Versuchstiere. Ich möchte sie deshalb als Pseudorotzbacillen bezeichnen. Unter diesem Namen wurden schon von Babes (3) Bakterien bezeichnet, die er bei einer rotzähnlichen Erkrankung von Pferden fand, und die morphologisch und kulturell die Eigenschaften der echten Rotzbacillen hatten, aber Unterschiede in der Virulenz zeigten. Sie riefen bei Meerschweinchen nicht die typischen Veränderungen wie Rotz hervor, zeigten dagegen bei Kaninchen, die gegen Rotz gewöhnlich refraktär sind, eine durch mehrfache Passage gesteigerte Virulenz, so daß die Kaninchen schon nach 2 Tagen an Septikämie zu Grunde gingen. Babes und Zigura (4) fanden in einem Falle von Darmerkrankung beim Menschen einen Bacillus, der morphologisch dem Rotzbacillus ähnlich war, sich aber schwer kultivieren ließ. Als morphologisch ähnliche Bakterien sind auch noch die Nekrosebacillen (*Bacillus necrophorus* [Flügge], *B. necroseos* [Salomonsen], *Streptothrix cuniculi* [Schmorl], *Str. necrophora* [Kitt]) zu erwähnen, soweit die Fähigkeit, lange.

unverzweigte Fäden zu bilden und die mangelnde Färbbarkeit nach Gram in Betracht kommt [Kruse (5), Jensen (6)]. Allerdings neigt bei den letzteren gerade das anaërobe Wachstum vor.

Zum Schluß spreche ich Herrn Prof. Kruse für die Unterstützung bei dieser Arbeit meinen besten Dank aus.

Literatur.

- 1) Wladimiroff, A., Rotz. (Handbuch der pathog. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. II. p. 707.)
- 2) Kruse, Rotzbacillus. (Die Mikroorganismen. II.)
- 3) Babes, Observations sur la morve. (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1891.)
- 4) Babes u. Zigura, Étude sur l'Entéro hépatite suppurée endémique. (Arch. de méd. expér. 1894.)
- 5) Kruse, Streptothrix cuniculi. (Flügg's Mikroorganismen. I.)
- 6) Jensen, Die vom Nekrosebacillus hervorgerufenen Krankheiten. (Handbuch der pathog. Mikroorganismen. II. p. 693.)

Nachdruck verboten.

Studien zur Biologie des Influenzabacillus.

[Aus dem pathol.-anat. Institute in Wien (Prof. A. Weichselbaum).]

Von Dr. A. Ghon und Dr. W. v. Preyss.

II.

Im ersten Teile dieser unserer Arbeit berichteten wir unter anderem auch, daß es uns bei der Nachprüfung einiger Versuche Cantanis (Zeischr. f. Hyg. Bd. XXXVI) nicht gelungen war, auf gewöhnlichem Agar (ohne Blutzusatz) bei Anwesenheit sonst fördernder Keime (Mic. gonorrh., Bac. diphtheriae, Staph. pyog.) Influenzabacillenwachstum zu erlangen.

Herr Cantani hatte daraufhin die Liebenswürdigkeit, uns mehrere Kulturen zu übersenden, die es uns ermöglichen sollten, die Richtigkeit seiner Angaben an seinem Materiale zu überprüfen, und fand sich gleichzeitig veranlaßt, in einer kurzen Mitteilung (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII) seine veröffentlichten Versuchsergebnisse aufrecht zu erhalten und diese nochmals in folgenden Sätzen zusammenzufassen:

„1) Die Möglichkeit, die Influenzabacillen auf hämoglobinfreien Nährböden züchten zu lassen, soll man als eine sicher bewiesene Tatsache anerkennen.

„2) Daß man mit ausschließlichem Bakterienzusatz das Wachstum eines anderen Bakteriums auf dem sonst unpassenden Nährboden bewerkstelligen kann, wird bei den Influenzabacillen in deutlicher Weise nachgewiesen.“

Das uns von Cantani zugesendete Material bestand aus 6 Eprouvetten, von denen die erste eine Kultur einer grünen Sarcine zeigte, die zweite eine Kultur von Influenzabacillen auf Agar nach Voges, die dritte eine Influenzabacillenkultur auf Agar mit Zusatz zweier Kulturen grüner Sarcine, 3 Stunden bei 60° C sterilisiert, die vierte eine Influenzabacillenkultur auf Agar mit Zusatz einer Kultur grüner Sarcine, 3 Stunden bei 60° C sterilisiert, und die fünfte eine Influenzabacillenkultur auf Agar mit Zusatz einer Kultur grüner Sarcine, 1/4 Stunde bei 100° C

sterilisiert. Das sechste Röhrchen stellte ein Kontrollröhrchen dar: Agar ohne Zusatz, mit Influenzabacillen beschickt, ohne Wachstum.

Nachdem wir die uns übersendeten Kulturen geprüft hatten, überimpften wir Cantanis Influenzabacillen und grüne Sarcine, die sich noch beide als lebensfähig erwiesen. Damit wurde zunächst nachfolgende Versuchsreihe auf dem im Institute hergestellten Agar gemacht:

Von einer 3tägigen, gut entwickelten Influenzabacillenkultur (Hämatingar mit *Staph. pyogenes*) wurden beschickt:

- 1) Agar (Kontrolle);
- 2) Agar mit Zusatz einer Kultur grüner Sarcine, die $\frac{1}{4}$ Stunde bei 100° C sterilisiert worden war;
- 3) 24stündige Sarcine-Agarkultur, die $\frac{1}{4}$ Stunde bei 100° C sterilisiert worden war;
- 4) Agar wie bei 2 + H₁ (= Hämatin).

Von diesen Kulturen, die 3 Tage lang bei 37° C gehalten wurden, blieben 1, 2 und 3 völlig steril, 4 zeigte üppiges Wachstum der Influenzabacillen.

Daraufhin wurde jenes Kulturröhrchen Cantanis, welches 2 abgetötete Kulturen der grünen Sarcine erhalten hatte, verflüssigt, $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf 100° C erhitzt, sodann der verflüssigte Nährboden in eine Petri-Schale ausgegossen und nach dem Erstarren mit Cantanis Influenzabacillenstamm beschickt. Nach 48 Stunden (37° C) zeigte die Kultur Wachstum der Influenzabacillen, deren Kolonien allerdings recht klein blieben.

Schon während der Bearbeitung des ersten Teiles unserer Abhandlung, noch mehr aber während der Fortsetzung unserer diesbezüglichen Studien, war in uns die Vermutung rege geworden, daß Cantanis positive Resultate möglicherweise auf den Hämatingehalt seines Agars zurückzuführen seien. In dieser Annahme wurden wir durch die Resultate der oben mitgeteilten Versuchsreihe bestärkt. Tatsächlich entsprach auch die Farbe der uns von Cantani zugesendeten Agar-röhrchen jener, die wir bei ganz geringem Hämatingehalt dieses Nährbodens sehen können. Die spektroskopische Untersuchung von Cantanis Agar aber ergab dasselbe Bild, welches wir gesehen hatten, wenn wir mit ganz kleinen Blut- oder Hämatingehalten arbeiteten, und zeigte auch bei Hydrazinzusatz keine charakteristischen Streifen. Eigentlich aber müßte jeder Agar hämatingehaltig sein, weil das zur Bereitung des Fleischwassers bezw. der Fleischbrühe verwendete Fleisch stets Blut, allerdings in verschiedener Menge, enthält, das sich mindestens zum kleinen Teile in Hämatin umsetzt und löst.

Die Cantanischen Versuche wiederholten wir nun oftmals. So oft im Institute frischer Agar bereitet wurde, machten wir diese Versuche. Dabei zeigte sich auch tatsächlich, daß dieselben auf manchem Agar positiv ausfielen. Allerdings war das Wachstum der Influenzabacillen dabei ein kümmerliches, ein geringes, manchmal die Kolonien überhaupt nur mikroskopisch nachweisbar, immer nur in nächster Nähe der fremden Keime oder nicht selten auch nur unter diesen. Auf manchem Agar aber mißlangen die Versuche ganz¹⁾.

1) Es sei hier bemerkt, daß wir alle unsere Versuche ausschließlich in der Petri-Schale ausführten, um die Kulturen auch genauestens mikroskopisch untersuchen zu können. Als sicher positiv betrachteten wir nur jene Kulturen, die Influenzabacillen-Kolonien — wenn auch dürrig entwickelte — nachweisen ließen. Waren dieselben

Wir ließen nun einen Agarnährboden in folgender Weise herstellen: Fleisch wurde in der gewöhnlichen Weise gekocht, Pepton, Kochsalz und Agar in dem üblichen Verhältnis beigemischt und alles unfiltriert durch eine Woche stehen gelassen, dann erst wurde filtriert (durch Watte) und das Filtrat in Platten ausgegossen. Leider gelang es nicht, das Filtrat vollkommen klar zu erhalten. Stets gingen Partikelchen des reichlichen Niederschlages mit durch. Auf diesen Platten wuchs der Influenzabacillus zwar kümmerlich, aber immerhin makroskopisch gut sichtbar und ohne Anwesenheit irgend eines fremden Keimes.

Dieser Versuch scheint uns zu beweisen, daß das Blut, welches in dem zur Herstellung der Fleischbrühe verwendeten Fleische vorhanden ist, schon genüge, um auf der ganzen damit bereiteten Agarmenge das Wachstum der Influenzabacillen zu ermöglichen. Die Erscheinung, daß ein Zusatz von fördernden Keimen nicht nötig war, erklärt sich nach unserer Meinung daraus, daß das Filtrat, wie früher hervorgehoben wurde, nicht klar war, sondern daß in demselben vielmehr Partikelchen suspendiert erschienen. Wir hatten nun schon im ersten Teile dieser Abhandlung erwähnt, daß Influenzabacillenwachstum ohne Anwesenheit fremder fördernder Keime dann erfolge, wenn dem gewöhnlichen Agar Blut zugesetzt und dieses Gemisch sofort mit dem entstandenen Niederschlage in Platten ausgegossen und geimpft wurde, während auf ebenso vorbereitetem, aber genau filtriertem Agar nur nach längerem Stehen des Nährbodens und nur bei Anwesenheit fördernder Keime Influenzabacillenwachstum zu konstatieren war. Wir haben dies damit erklärt, daß die Umwandlung des Blutfarbstoffes in Hämatin oder diesem nahestehende Abbauprodukte unter irgendwelcher Einwirkung des Agars nur allmählich vor sich gehe. Den Beweis für diese Meinung glauben wir darin zu sehen, daß unfiltrierter Agar, dem Blut zugesetzt war, nach sehr lang dauerndem Aufbewahren, auch mit dem Niederschlage gegossen, allein, ohne fremde fördernde Keime, Influenzabacillenwachstum nicht mehr ermöglichen, daß also bei Anwesenheit von Teilchen des noch nicht umgewandelten Blutfarbstoffes Influenzabacillen ohne Hilfskeime gedeihen können, während auf genau filtriertem Agar, in dem diese Partikelchen und damit jede Spur noch nicht umgewandelten Blutfarbstoffes fehlen, der mithin nur mehr hämatinhaltig ist, Influenzabacillenwachstum ohne fördernde Keime unmöglich sei.

Nun ist aber der Blutgehalt des jeweilig zur Agarbereitung verwendeten Fleisches verschieden. Verschieden ist für gewöhnlich auch die Dauer des Kochens und des Filtrierens, sowohl der Fleischbrühe als auch des daraus bereiteten Agars. Daraus ergibt sich demnach für jede einzeln bereitete Agarmenge in Bezug auf die Mengenverhältnisse eine andere chemische Zusammensetzung — wenigstens in Betreff des Hämoglobingehaltes des Nährbodens.

Deshalb haben eigentlich alle jene Versuche, bei denen das Wachstum der Influenzabacillen ein so kärgliches ist, daß es sich oft nur bei genauester mikroskopischer Untersuchung konstatieren läßt, wenig Wert, da dieselben nur zeigen, ob der Hämingehalt des Nährbodens die zum Wachstum der Influenzabacillen nötige Höhe erreicht habe oder nicht. Vergleichende Versuche dürften deshalb nur dann absolut richtig sein,

unter den Kolonien der fremden Keime, so gelang es auch, sie am Rande dieser mikroskopisch nachzuweisen.

wenn Agar derselben Provenienz und desselben Alters verwendet wird, da man nur dann sagen kann, daß das Wachstum der Influenzabacillen bei einem bestimmten Zusatz besser oder schlechter war als bei einem anderen.

Diese Verschiedenheit des jeweilig verwendeten Nährbodens hat auch unsere Untersuchung, welcher von den Bestandteilen des Blutfarbstoffes — ob der Eisen- oder der Eiweißteil — für das Wachstum der Influenzabacillen in Betracht komme, sehr erschwert.

Wir trachteten vor allem zu ergründen, in welcher Weise die das Influenzabacillenwachstum fördernden Keime ihren Einfluß ausüben. Zu diesem Zwecke versuchten wir auf Hämatinplatten Wachstum der Influenzabacillen durch Zusatz verschiedener Chemikalien unter Ausschluß fördernder Keime zu erzielen. Auf Anraten Prof. Dr. v. Zeyneks, der uns auch diesmal wieder in liebenswürdigster Weise behilflich war, setzten wir dem Hämatin zunächst Hydrazin zu, so Hämochromogen darstellend. Dabei zeigte sich nun, daß unter ca. 40 Platten, die wir in dieser Weise mit Hämochromogen gegossen hatten, 5 Platten deutliches Influenzabacillenwachstum aufwiesen, während die Kontrollplatten steril geblieben waren. Diese 40 Platten waren sämtlich ohne Zusatz fremder Keime geimpft worden und auch rein geblieben (die verunreinigten Platten sind als wertlos dabei nicht mitgezählt). Es war uns also tatsächlich gelungen, die Wirkung der fördernden Keime durch den Hydrazinzusatz zu ersetzen, allerdings nur teilweise, da das Wachstum ein weit schlechteres als bei Anwesenheit fördernder Keime war. Diese Dürftigkeit in der Entwicklung könnte möglicherweise darin ihren Grund haben, daß die Influenzabacillen auf dem so bereiteten Nährboden nur kurze Zeit für das Wachstum zur Verfügung haben, so lange nämlich, bis sich das Hämochromogen wieder zu Hämatin oxydiert hat. Sehr unangenehm dabei war nur der Umstand, daß die Versuche so oft mißlingen. Die Erklärung dafür könnte darin gesucht werden, daß es im allgemeinen sehr schwierig ist, das richtige Mengenverhältnis von Hämatin und Hydrazin zu finden. Da sich nun Hämochromogen an der Luft äußerst rasch oxydiert, eine anaerobe Züchtung aber wegen des Sauerstoffbedürfnisses der Influenzabacillen wenig Erfolg verspricht, so durfte es sich erst in dem schon ausgegossenen Agar bilden, damit es wenigstens eine längere Zeit dauere, bis die Rückumsetzung vollzogen erscheine und die Influenzabacillen Gelegenheit finden, diese Zeit für ihr Wachstum auszunützen. Setzt man wenig Hämatin zu, so entsteht wenig Hämochromogen, welches wegen der geringen Menge auch wieder in kurzer Zeit oxydiert wird. Andererseits ist aber Hydrazin ein heftiges Protoplasmagift, welches im allgemeinen das Wachstum der Bakterien verhindert. Ein reichlicher Hämatinzusatz aber erforderte viel Hydrazin. Nur wenn es gelingt, die richtige Mitte zu finden, kann Influenzabacillenwachstum erfolgen.

Die wenigen gelungenen Platten schienen immerhin auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß die Wirkung der fördernden Keime auf das Hämatin hauptsächlich eine reduzierende sei. Nach v. Zeynek wäre die Wirkung so aufzufassen, daß das Eisen im Hämatinmolekül fester gebunden sei als im Hämochromogen und dadurch der Einfluß des Eisens für das Wachstum der Influenzabacillen nur nach einer Lockerung der Eisenverbindung durch die Hilfskeime zur Geltung gelangen könne.

Für die reduzierende Wirkung der fremden Keime auf das Hämatin spräche auch der folgende Versuch: Wir beschickten den Boden einer

leeren Petri-Schale mit Kulturmasse von *Staphylococcus pyogenes* und gossen, nachdem die Kulturmasse angetrocknet war, Agar + Hämatin in dicker Schicht darüber. Auf die Oberfläche des dann erstarrten Nährbodens impften wir Influenzabacillen. Das Wachstum der angegangenen Influenzokolonien war ein üppiges, anscheinend besser, als wenn fremde fördernde Keime auf der Oberfläche des Nährbodens ausgesät waren, obwohl die Entfernung der auf dem Schalenboden befindlichen Keime von den auf der Oberfläche geimpften Influenzabacillen über 1 cm betrug — so dick war die Hämatin-Agar-Schicht. Vielleicht hatte hier die Behinderung des Zutrittes von Luftsauerstoff zu den von den Keimen erzeugten fördernden Substanzen so günstig gewirkt. Durch diese Annahme könnte auch die Erscheinung erklärt werden, daß Kulturen von *Staphylococcus pyogenes*, welche nach Ablauf von mehr als 48 Stunden abgetötet wurden, nicht oder weniger fördern als solche, die schon zu dieser Zeit getötet waren, eine Tatsache, die ja auch schon Grassberger beobachten konnte.

Die Annahme, daß die Lockerung des Eisenteiles im Molekül für das Wachstum der Influenzabacillen von Belang sei, wies darauf hin, zu versuchen, ob nicht irgend ein Eisenpräparat im stande sei, den gewöhnlich bereiteten Agar für die Influenzabacillenzüchtung tauglich zu machen. Wir versuchten es zuerst — wie schon R. Pfeiffer und R. Grassberger — mit den beiden Blutlaugensalzen, jedoch ohne Erfolg. Auch Nitroprussidnatrium, pyrophores Eisen, ameisensaures Eisen, weinsaures Eisen sowie Harnstoff, mit Eisen bis zur Biuretbildung erhitzt, ermöglichten, dem Agar zugesetzt, allein, ohne Zusatz fördernder Keime, gar kein Wachstum. Nach Zusatz fördernder Keime erfolgte manchmal Wachstum, aber dann auch nur in jener Dürrtigkeit, wie es nach Cantani auch auf gewöhnlichem Agar erfolgen kann.

Besseren Erfolg hatten wir mit folgendem Versuch: Frisch bereitetes Eisenhydroxyd wurde in frisch bereiteter Blausäure gelöst und das Präparat durch Kochen sterilisiert. Wurde nun davon etwas auf die Agaroberfläche verstrichen, sodann eine Kulturaufschwemmung von Influenzabacillen gleichfalls über die ganze Nährbodenoberfläche verteilt und diese, nachdem beides vom Agar aufgesogen war, mit fördernden Keimen beschickt, so erhielten wir jedesmal um die fremden Keime Influenzabacillenwachstum. Die zur Entwicklung gelangten Kolonien waren zwar auch klein, aber im allgemeinen doch wesentlich größer, als wenn derselbe Versuch ohne Zusatz dieses „Cyaneisens“ gemacht wurde.

Bei unseren Versuchen, auch auf gewöhnlichem Agar Influenzabacillenwachstum zu erzielen, hatten wir auch Agarnährböden aus verschieden altem Fleisch dargestellt und dabei gefunden, daß Agar, aus Fleisch bereitet, welches durch 4 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, sich ohne Zusatz als ungünstig für das Wachstum der Influenzabacillen erwies. Strich man jedoch vorher Cyaneisenlösung auf, so erhielten wir Wachstum. Es wäre allerdings möglich, daß dabei noch andere Komponenten in Frage kämen. Jedenfalls aber scheint uns der Schluß erlaubt, daß Eisengehalt des Nährbodens von den Influenzabacillen für die Entwicklung unbedingt gefordert werde. Dafür spricht unserer Meinung nach noch folgendes: Cantani fand, daß auf Menschengalle üppiges Influenzabacillenwachstum erfolge. Diese Versuche Cantanis wiederholten wir. Die Entnahme der Galle, die wir an Leichen ausführten, fand dabei unter allen Kautelen statt — galt es doch selbst die geringste Blutbeimengung zu vermeiden.

Die Galle wurde sodann in Soda gekocht und aufgestrichen. Da zeigte es sich nun, daß die Galle einzelner Individuen ein ziemlich gutes Influenzabacillenwachstum ermöglichte, ähnlich wie auf Hämatinplatten (H_1), die anderer Individuen ein viel schlechteres und die einer dritten Reihe von Individuen gar keines. Da nun einerseits der Zusatz sämtlicher bekannter Gallenbestandteile, mit Ausnahme des Eisens, einzeln oder zusammen, Influenzabacillenwachstum niemals ermöglichte, wie wir schon im ersten Teile unserer Mitteilung gezeigt haben, andererseits aber die Galle des Menschen Schwankungen im Eisengehalt aufweist, so liegt es nahe, anzunehmen, daß das ungleiche Verhalten der Influenzabacillen auf Agar, dem Galle verschiedener Provenienz zugesetzt ist, mit dem wechselnden Eisengehalt der einzelnen Gallen in Verbindung zu bringen sei.

Doch nicht nur die eisenhaltigen Bestandteile des Blutfarbstoffes beansprucht der Influenzabacillus für sein Wachstum: Wir versuchten auf sogenanntem Wasseragar¹⁾ mit und ohne Zusatz von H_1 -Lösung, unter Beigabe fremder sonst fördernder Keime, Influenzabacillen zu züchten. Dies gelang nie. Wurde aber dem H_1 -Wasseragar nur wenig Fleischbrühe zugesetzt oder auf die Oberfläche aufgestrichen, so gedieh nunmehr der Influenzabacillus. Dieselben positiven Resultate erhielten wir, wenn wir dem H_1 -Wasseragar sterile Milch zugaben. Für das Wachstum des Influenzabacillus erscheint demnach ein Bestandteil der Fleischbrühe oder Milch nötig mit einem unbedingt eisenhaltigen Teil des Blutfarbstoffes, der jedoch das Eisen in leicht abspaltbarer Form enthalten muß.

Wie verschieden resorbierbar für den Influenzabacillus das Eisen im Blutfarbstoff und seinen Derivaten ist, zeigt die Tatsache, daß dieser Bacillus auf Hämoglobin ohne Hilfe fremder Keime, auf Hämatin nur mit Hilfe fremder Keime, auf Melano-Sarkom-Melanin überhaupt nicht sich zu entwickeln im stande sei.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Biologie des Influenzabacillus zusammen, so glauben wir zunächst auf die Verwendbarkeit des von uns für die Züchtung des Influenzabacillus eingeführten Hämatinährboden hinweisen zu dürfen. Als einfachste Darstellungsweise hat sich folgende erwiesen:

Fleisch wird in der vorschriftsmäßigen Weise gekocht, jedoch nicht filtriert. Dem so bereiteten Fleischwasser wird sodann in der üblichen Weise 1 Proz. Pepton, $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz und 1–2 Proz. Agar zugesetzt und das Gemenge neutralisiert. Nachher wird diesem unfiltrierten noch heißen Gemenge eine größere Quantität in Sodalösung gekochten, frischen Rinderblutes beigemengt. Dabei ist eine größere Menge Blutes ganz irrelevant, nur ist zu starke Alkaleszenz zu vermeiden. Die ganze Mischung bleibt nun, gut durchgeschüttelt, durch 2–4 Wochen unfiltriert stehen, wird dann durch Watte filtriert und in Eprovetten abgefüllt. Der sonst klare Agar zeigt nunmehr einen grünlichen Farbestich. Dieser Nährboden kann, ohne Schaden zu leiden, wiederholt aufgekocht und verflüssigt werden und scheint unbegrenzt lange Zeit haltbar zu sein. Er eignet sich nicht nur in hervorragender Weise zur Züchtung des Influenzabacillus, natürlich nur mit Zusatz fördernder Keime, sondern auch zur Züchtung anderer Bakterien.

1) Wasseragar = 1–2-proz. Agarlösung in Wasser mit Zusatz von $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz und 1 Proz. Pepton.

Wir haben ferner gezeigt, daß der Influenzabacillus als ein feines Reagens auf Blutfarbstoff angesehen werden kann, als ein Reagens, welches ob seiner Empfindlichkeit sogar geeignet erscheine, in der gerichtlichen Medizin eine Rolle zu spielen.

Des weiteren fanden wir, daß der Influenzabacillus für sein Wachstum sowohl Eisenverbindungen (Pfeiffer und Grassberger) als auch Stoffe (Eiweißkörper oder Salze oder beide) benötige, die in der Fleischbrühe und in der Milch enthalten sind. Ob diese Stoffe auch im Blutserum enthalten sind, können wir nicht entscheiden.

Auf die Frage, wodurch das Riesenwachstum der Influenzabacillenkolonien zu stande komme und worin der wachstumsfördernde Einfluß gewisser Keime begründet sei, entzieht sich unserer sicheren Beantwortung. Es erschiene aber plausibel, daß die von einzelnen Keimen produzierten reduzierenden Substanzen als Ursache davon anzusehen seien.

Nicht ermangeln möchten wir schließlich, nochmals darauf hinzuweisen, wie verschieden der Agarnährboden auch bei anscheinend ganz gleichartiger Zubereitung sein könne. Wir müssen Grassberger zustimmen, welcher meint, daß auch die Provenienz des zur Agarbereitung verwendeten Fleisches für das Influenzabacillenwachstum nicht ganz belanglos sei.

Nachdruck verboten.

Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus

(mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen).

Von Prof. Dr. H. Preisz in Budapest.

Mit 2 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Diese Körnchen, die ich fernerhin Kerne nennen werde, haben eine ziemlich konstante Größe und eine regelmäßige rundliche Gestalt, auch zeigen sie manchmal eine längliche Form mit einer Einschnürung oder kleinen Diplokokken ähnliche Figuren, und sind nicht selten von einem hellen Hofe umgeben (siehe Fig. 1—4, 7 u. a.).

Aus der vorangeschickten Beschreibung und aus den betreffenden Abbildungen ist ersichtlich, daß diese Kerne in enger Beziehung stehen zu den Scheidewänden, die den Zellenleib teilen, und mit jenen, die die Sporenanlage gegen die Mutterzelle abgrenzen. Diese nahe Beziehung äußert sich darin, daß die jüngsten feinen Scheidewände häufig quer über, d. h. durch diesen Kern ziehen. Man bekommt durch diese Bilder entschieden den Eindruck, daß es sich hier um gleichzeitige Kernteilung und Scheidewandbildung handelt, während die länglichen, eingeschnürten Kerne darauf hinweisen, daß die Kernteilung auch selbständig, d. h. ohne gleichzeitige Bildung von Scheidewänden, erfolgen kann (Fig. 7—11).

Nach Beginn der Sporenbildung läßt sich bereits in den jüngsten Sporenanlagen, sowie später noch in fast ausgewachsenen Vorsporen ein Kern nachweisen von derselben Beschaffenheit, wie in ganz jungen

Zellen; zuweilen wächst er in der Sporenanlage zu einer Größe an, die er sonst nicht zu erreichen pflegt. Da ich den Gang der Sporenbildung nicht direkt beobachtete (dies wäre ja an lebenden, ungefärbten Bacillen auch nicht möglich), sondern mir denselben aus zahlreichen Bildern rekonstruierte, so muß ich, um berechtigten Einwänden vorzubeugen, betonen, daß ich auch den Uebergang vom Zellkern zum Kern der Sporenanlage nicht direkt verfolgen konnte. Daß aber der Kern der Sporenanlage aus einem Kern der Zelle hervorgeht, folgere ich nicht nur aus der absoluten Aehnlichkeit beider, sondern auch daraus, daß Zellen mit Sporenanlagen außerhalb der letzteren häufig keinen Kern aufweisen, ferner aus der ebenfalls auffallenden Aehnlichkeit, die zwischen einer durch einen Zellkern ziehenden jungen Scheidewand und einer gleichfalls durch einen solchen Körper ziehenden jungen Wand der Sporenanlage besteht.

Die Beteiligung dieser Körperchen an der Sporenbildung scheint mir nun zu bekräftigen, daß sie wirkliche Kerne sind.

Wenn es nicht gelingt, in jeder Zelle und in jeder Sporenanlage einen Kern nachzuweisen, so muß ich daran erinnern, daß der Kern in der Sporenanlage durch das chromatische Plasma verdeckt werden kann und daß es in der Entwicklung des Kernes Phasen geben kann, die bei den angewandten Färbeverfahren der Beobachtung entgehen.

Diese Kerne sind von den Schottelius-Nakanishischen kernartigen Gebilden sowohl nach Größe und Form als nach Lagerung und Färbungsvermögen gänzlich verschieden, was aus meiner Beschreibung und den Bildern zweifellos hervorgeht; ebenso verschieden sind sie von den Babes-Ernstschen Körnchen, denn sie sind mit Methylenblau (nach Loeffler) nicht schwarzblau färbbar, ferner sind sie in allen Kulturen stets vorhanden, während die Babes-Ernstschen Körnchen in Milzbrandkulturen häufig gänzlich fehlen.

☞ Nicht zu verwechseln sind diese Kerne mit jenen Körnchen und regellos gestalteten Schollen, die in älteren und alten Kulturen, mit der gleichen Methode ebenfalls dunkelrot gefärbt, oft zahlreich im Plasma der Zellen erscheinen, die aber gewiß nicht als Bestandteile normaler Zellen gelten können (siehe oben).

Diese Kerne entsprechen in jeder Hinsicht völlig den von A. Meyer beim *Bacillus asterosporus* beobachteten Körnern, von denen er sagt: „Die Schwärmer enthalten in den normalen einfachen Stäbchen meist einen oder zwei schwer nachweisbare Zellkerne“. Ich überzeugte mich an einer aus Králs Laboratorium bezogenen Kultur dieses Bacillus, daß der von A. Meyer geschilderte Kern mit verdünnter Fuchsinlösung in frischen Bacillen gut färbbar ist; zufolge der kleineren Dimensionen dieses Bacillus ist auch der Kern noch kleiner als der des Milzbrandstäbchens. Ferner gibt A. Meyer an, in der Sporenanlage, die er Sporenvakuole nennt, wenn auch sehr selten, „eine Andeutung“ eines Kernes gesehen zu haben.

Behufs Darstellung dieser Kerne bediente sich A. Meyer zuerst der Fixierung mit Osmiumsäure und Färbung mit Rutheniumrot, später aber des Formolfuchsin.

Ganz ähnliche Kerne konnte ich mittels der Fuchsinmethode im *Bac. cohaerens*, *Bac. tetani* und einem dem *Bac. subtilis* sehr ähnlichen Bakterium, sowie bei mehreren anderen Bakterien, sichtbar machen.

Auch darin stimmen die im Milzbrandstäbchen von mir beobach-

teten Kerne mit den von A. Meyer im *Bacillus asterosporus* und später auch im *Bacillus tumescens* gefundenen Kernen überein, daß sie in ruhenden Sporen nicht nachweisbar sind, wohl aber in keimenden Sporen, ferner daß sie mit Methylenblau nur undeutlich, in angetrockneten Deckglaspräparaten aber überhaupt nicht darstellbar sind.

Die bedeutsamste Übereinstimmung von A. Meyers und meinem Befunde liegt zweifellos darin, daß in beiden Fällen die als Kerne bezeichneten Zellenbestandteile sich an der Sporenbildung beteiligen.

Nach Größe, Lagerung und Anzahl sind diese Kerne ganz jenen roten Kügelchen ähnlich, die A. Fischer nach Fixierung mit Jodalkohol und Färbung mit Delafieldschem Hämatoxylin in 12—20-stündigen Milzbrandstäbchen beobachtet und abgebildet hat (Fig. 251, 252); man sieht hier vor der Sporenbildung 1—2 rote Kügelchen in einer Zelle, ferner zwei „junge Sporenkörper“ mit je einem roten Körperchen an der Peripherie der Sporenkörper, während außerhalb der Spore der Zelleib kein rotes Körnchen mehr aufweist.

B. Ueber die säurefeste und metachromatische Substanz.

Ueber die Entstehung der säurefesten Substanz sowie über ihre mannigfaltige Gestaltung und ihre Teilungerscheinungen habe ich bereits ausführlich gesprochen; ergänzungshalber habe ich noch folgendes zu bemerken:

Eine innige Beziehung zwischen der säurefesten Substanz und der Sporulation gibt sich darin zu erkennen, daß säurefeste Kügelchen um so früher in den Zellen erscheinen, je rascher der betreffende Stamm Sporen bildet, ihre Entwicklung dagegen sich verzögert und kümmerlich bleibt in Stämmen, die fast oder ganz asporogen sind. Demgegenüber beobachtet man aber eben in sekundären Kolonien (sowohl normaler wie künstlich abgeschwächter Stämme), deren Sporulationsvermögen wesentlich beschränkt ist, ein exzessives Wachstum mit allerlei hyperplastischen Gestalten der säurefesten Substanz. Ich habe zuweilen in älteren, abgeschwächten Kulturen sekundäre Kolonien gesehen, die fast ausschließlich aus säurefesten Kügelchen bestanden, die an Größe Sporen übertrafen.

Zellen mit reifen Sporen bergen häufig keine säurefesten Körperchen mehr, das Vorkommen eines oder einiger solcher kleiner Körperchen neben der Spore ist jedoch keine Seltenheit.

Die säurefeste Substanz ist demnach ein Erzeugnis des Protoplasmas, ein ergastischer Bestandteil der Zelle; ihre jüngsten Stadien sind, wie ich bei der Besprechung des Kernes hervorhob, bereits in den jüngsten Keimlingen nachweisbar; sie ist offenbar ein Reservestoff, der irgendwie, keinesfalls aber förmlich, zum Aufbau der Spore verwendet wird.

In Betreff der chemischen Zusammensetzung der säurefesten Substanz habe ich genauere Prüfungen nicht angestellt, doch glaube ich annehmen zu dürfen, daß diese Substanz, wenigstens zum größten Teil, aus einem fettartigen Körper besteht. Dafür spricht vor allem das den Fettstoffen eigene starke Brechungsvermögen sowie die Eigenschaft, runde Tröpfchen und Kügelchen zu bilden.

Es gelang mir nicht, diese Substanz mittels Osmiumsäure schwarz zu färben; dagegen ist sowohl mikro- als makroskopisch leicht nachzuweisen, daß sie aus alkoholischer Lösung Sudan III schnell aufnimmt

und sich entschieden rötlich oder orangerot färbt. Zur makroskopischen Reaktion eignen sich besonders ältere Agarkulturen mit sekundären Kolonien. Man gießt das Kondensationswasser ab und wäscht die Kultur eventuell einmal mittels konzentriertem Alkohol behufs Entfernung des Wassers, das in Berührung mit der alkoholischen Lösung von Sudan III einen Niederschlag gibt; nun überschüttet man die Kultur mit der Sudanlösung und läßt 10—15 Minuten stehen, dann wird der Farbstoff abgegossen und die Kultur mit konzentriertem Alkohol rasch abgespült. Die Kulturfläche hat nun ein buntes Aussehen, indem die primären Partien kaum oder nur schwach rötlich, die sekundären Kolonien hingegen dunkel orangerötlich gefärbt erscheinen. Durch das Mikroskop überzeugt man sich leicht, daß diese Farbenunterschiede durch quantitative Verschiedenheit an säurefester Substanz bedingt werden, welch letztere in sekundären Kolonien oft massenhaft vorhanden ist.

Ueber Fettgehalt der Kulturen des Milzbrandstäbchens berichtet meines Wissens bisher nur Sata; nur in Kulturen auf Glycerinagar soll, wie er angibt, mittels der soeben erwähnten makroskopischen Reaktion Fett nachzuweisen sein. Welche Zellbestandteile aber aus Fettstoff bestehen oder diesen enthalten, darüber äußert sich Sata nicht.

Wenn Sata die Fettreaktion nur an Kulturen auf Glycerinagar erhielt, so dürfte dabei wohl ein Zufall im Spiele gewesen sein, ich fand diese Bedingung nicht für nötig und nur das Vorhandensein je reichlicherer säurefester Substanz ist für eine positive Sudanreaktion maßgebend.

Wie aber aus der Schilderung der mit Anilinwassergentiana oder mit Karbolmethylblau gefärbten Präparate hervorgeht, bestehen die säurefesten Körper fast ohne Ausnahme nicht aus einer einheitlichen Substanz, sondern sie bergen die metachromatische Substanz in sich. Ueber die chemische Beschaffenheit dieser metachromatischen Substanz kann ich nichts angeben; mittels Osmiumsäure oder Sudan III sowie auch ohne Färbung läßt sich in der säurefesten Substanz keine Differenzierung erkennen; in den mit Karbofuchsin und Schwefelsäure rotgefärbten, großen, säurefesten Körpern aber sieht man zuweilen einen oder mehrere schwarze Einschlüsse, so wie sie schon durch Bunge und Krompacher abgebildet wurden. Ich halte diese Einschlüsse für veränderte metachromatische Substanz, denn der Regel nach erscheint die auf Säurefestigkeit gefärbte Substanz ganz homogen trotz des in ihr enthaltenen metachromatischen Stoffes.

Ich hätte über die säurefesten Körper nichts mehr zu sagen, wenn mich nicht ihre geschichtliche Bedeutung noch zu einigen Bemerkungen veranlaßte; sie gewannen diese Bedeutung hauptsächlich dadurch, daß sie mehrfach als Sporen oder als Anlagen derselben betrachtet und beschrieben wurden. Mit Hinweisung auf meine Beschreibung und Abbildungen kann ich mich wohl mit der einfachen Äußerung begnügen, daß die säurefesten Körper keine Vosporen sind und förmlich mit der Sporenbildung nichts zu schaffen haben; sie können zwar unter Umständen, namentlich im Trockenpräparate, ihrer Gestalt und Größe nach unleugbar auch vom geübten Auge sehr leicht für Sporen angesprochen werden (ich verweise diesbezüglich auf meine Abbildungen, besonders auf Fig. 110, 113, 114, 171, 172 u. a.), Kontrollbeobachtungen an frischen Bacillen aber legen den Irrtum klar.

Die Abbildungen von Ilkewicz (Fig. 231) stellen gewiß nichts anderes dar als säurefeste Körper mit oder ohne „Kerne“, wo letztere

wohl identisch sind mit der metachromatischen Substanz; das Gleiche gilt von der Abbildung Löwits (Fig. 225). Ob die von Sjöbring (Fig. 226) illustrierten großen rundlichen Gebilde unreife Sporen mit künstlich erzeugtem, scholligem Inhalte oder aber vielleicht gleichfalls säurefeste Körper mit metachromatischer Substanz gewesen, das läßt sich zufolge der sehr dürftigen Angabe der angewandten Färbemethode wohl kaum entscheiden.

Die von Krompecher beschriebenen metachromatischen Körnchen sind außer allem Zweifel identisch mit der von mir in den säurefesten Körpern gefundenen metachromatischen Substanz. Krompecher erkannte zwar nicht, daß letztere einen Bestandteil der säurefesten Körper darstellt, sprach aber die Vermutung aus, daß sie durch die Bungeschen Körper nach deren Färbung verdeckt werde, und da er betreffs der Sporenbildung auf Bunges Standpunkte hielt, so nahm er an, daß die metachromatische Substanz in näherer Beziehung zur Sporenbildung stehe.

Endlich möchte ich eine Bemerkung knüpfen an folgende Aeüßerung Ascolis: „Die ... erwähnten Beobachtungen lassen es als zweifelhaft erscheinen, ob ein fundamentaler Unterschied zwischen diesen (nämlich Bungeschen) und den Ernstschen Granulationen besteht.“

Meine Beobachtungen sprechen entschieden dafür, daß beim Milzbrandbacillus die Babes-Ernstschen Körnchen von den Bungeschen (= säurefesten) Körperchen gänzlich verschieden sind. Bei ihrem gänzlich verschiedenen färberischen Verhalten, das auf eine substantielle Verschiedenheit hinweist, könnte wohl die Frage auftauchen, ob die Babes-Ernstschen Körnchen, die nie die Größe der säurefesten Körperchen erlangen, nicht etwa junge Stadien der letzteren darstellen; ihr häufiges Fehlen bei stets vorhandenen säurefesten Körperchen und ihre stets periphere Lagerung gegenüber der axialen Lage junger säurefester Körnchen, endlich aber die ausgesprochene Säurefestigkeit der letzteren schon im allerjüngsten Stadium, gleich bei ihrem Erscheinen, kann jedoch eine solche Annahme nicht rechtfertigen.

C. Ueber Sporenbildung.

Die bisherigen Angaben und Auffassungen über die Sporenbildung lassen sich prinzipiell in zwei Gruppen unterbringen; indem ich auf die ausführlichen Zusammenfassungen von A. Meyer verweise, werde ich mich hier auf das Wichtigste beschränken.

In die erste Kategorie gehören jene Angaben, wonach die Spore aus einem Körnchen durch dessen Wachstum oder aus mehreren Körnchen durch ihr Zusammentreten hervorgeht.

De Bary (1884) gibt an, daß die Sporenbildung beim Milzbrandbacillus ähnlich verläuft wie beim *Bacillus subtilis*, nämlich ein kleines Körnchen vergrößert sich allmählich zur Spore. Bei *Bacillus tumescens* sollen nach Zopf (1885) Körnchen zusammenfließen und zur Spore heranwachsen.

Ohne Zweifel gehört auch der von L. Klein (1889) bei *Bacillus leptosporus* und *Bacillus sessilis* beschriebene Modus der Sporulation hierher. Klein sagt: „In einzelnen Zellen war auch schon ein größeres ... Körnchen zu sehen, die Initiale der jungen Spore“; ferner nach Vollendung der Sporenbildung: „Die Sporen lagen überall da, wo die Sporeninitiale am Abend vorher bemerkt worden waren“ (Fig. 245 bis 247). Wenn er aber ferner sagt: „In einzelnen Fällen waren sie

(d. h. die Sporen) abortiert und es lag dann eine mattgraue, wenig distinkt begrenzte Masse an ihrer Stelle“, so ist es mehr als wahrscheinlich, daß diese „abortierten Sporen“ die eigentlichen jungen Sporenanlagen, jene Körnchen aber Zellprodukte (Reservestoffe) gewesen, die mit der Sporenbildung nichts zu tun haben; denn „fast überall war außer der Spore noch ein an eine junge Sporenitiale erinnerndes Körnchen zu erkennen“. Da aber die Entstehung doppelter Sporenitiale in einer einzigen Zelle sehr unwahrscheinlich ist, so muß angenommen werden, daß jenes Körnchen sowohl vor wie nach der Sporenbildung gesehen wurde, die Spore sich aber aus einer anderen Anlage (der „mattgrauen“) entwickelte.

Daß Bunge (1895) die Spore aus den von ihm gefundenen säurefesten „Vorsporen“ durch ihr Zusammenfließen entstehen läßt, namentlich auch beim Milzbrandbacillus, habe ich an anderer Stelle bereits erwähnt.

Nach Migula und Burchhard sollen bei den meisten Bakterien die Sporen durch Zusammenfließen von Körnchen entstehen. „Die Sporenbildung wurde meist durch Körnchenbildung und späteres Zusammenfließen — wie bei *Bacillus subtilis* — eingeleitet.“ Demgegenüber hat A. Meyer (1899) festgestellt, daß bei *Bacillus subtilis* die Sporenbildung ebenso vor sich geht, wie bei *Bacillus asterosporus* (siehe weiter unten).

Die zweite Kategorie umfaßt jene Beobachtungen, wonach die Sporenanlage sich im Zellplasma als ein erst unscharf begrenztes Gebilde differenziert, das bereits zu Beginn die Größe der fertigen Spore besitzt und allmählich die Eigenschaften der fertigen Spore erhält.

Diese Art der Sporenbildung scheint Brefeld bereits 1881 beim *Bacillus subtilis* beobachtet zu haben, da er sagt: „es zeigt sich ein dunkler Schatten . . . es hat den Anschein, als ob die Substanzmasse des Stäbchens sich an einer Stelle sammelt“; desgleichen berichtet A. Koch (1888) über die Sporenbildung bei *Bacillus carotarum*, der in keinem Stadium seiner Entwicklung irgend welche Körnchen oder Tröpfchen enthält, folgendes: „Als ersten Anfang (der Sporenbildung) . . . konstatiert man das Auftreten eines stärker als das umgebende Zellprotoplasma lichtbrechenden . . . nicht scharf umschriebenen Fleckens in den betreffenden Zellen; derselbe nimmt dann weiterhin den Glanz und die scharfen Konturen der . . . Sporen an, um dann erst noch ziemlich beträchtlich sein Volumen zu vergrößern.“

Peters (1889) sagt von der Sporentwicklung seines *Bacillus E*: „Nun bemerkt man, einem Ende des Stäbchens genähert . . . eine Plasmabrücke, die sich . . . durch etwas stärkeres Lichtbrechungsvermögen unterscheidet, endlich erscheint an der Stelle dieser Plasmabrücke, zunächst schwach umschrieben, die Spore, und zwar sogleich in der endgültigen Größe.“

Bei *Bacillus Solmsii* bildet sich nach L. Klein (1889) die Spore, indem ein Ende des Stäbchens anschwillt und einen grünlichen Ton erhält; „darauf kontrahiert sich der gesamte Inhalt der angeschwollenen Stelle, sich von der Zellwand loslösend und immer mehr an Lichtbrechungsvermögen zunehmend etc.“

Bei grünen Anura- und Kaulquappenbacillen erscheint die Sporenanlage nach Frenzel (1891—1892) in der Mitte oder in einem Ende der Zelle als ein großer ovaler Körper, den er „Sporenkern“ nennt (Fig. 244); letzterer ist kleiner als die fertige Spore, wird später grün-

lich und kann sich amitotisch teilen. Genaueres über die Entstehung dieses Kernes konnte Frenzel nicht erforschen, und sagt: „so kann man nur angeben, daß er plötzlich da sei“, ferner faßt Frenzel die Spore als einen Kern auf, denn er sagt: „Beginnt mithin die Spore als ein kernartiger Körper, so werden allmählich die Bestandteile der gesamten Zelle in sie aufgenommen; morphologisch ist nun die Spore wahrscheinlich wohl ein Kern.“

A. Fischer (1897) bildet Sporenanlagen des Milzbrandbacillus ab (siehe Fig. 251) und sagt über die Entwicklung der Spore folgendes: „... ältere Stäbchen ... zeigen, daß die Spore durch eine Zusammenziehung des Inhaltes entsteht, der aber noch vollkommen den Bau der jungen Stäbchen erkennen läßt“ (nämlich Protoplasma mit Vakuolen und sogenannten Chromatinkörnern), „das ganze Protoplasma, vielleicht bis auf dürftige Reste, kontrahiert sich zu dem jungen ... Sporenkörper“, ferner: „ich möchte hervorheben, daß die junge Anlage zwar später sich noch mehr kontrahiert und etwas verdichtet, daß aber die schwere Färbbarkeit der reifen Spore nur durch die Impermeabilität ihrer Haut bedingt wird.“

A. Meyer (1897) verdanken wir eine eingehende Schilderung der Sporenbildung bei *Astasia asterospora* (*Bacillus asterosporus*); er sagt darüber: „Die erste Erscheinung, welche den Beginn der Sporenbildung verrät, ist ... eine geringe Anschwellung des Sporangiums ... und das Auftreten einer bei tiefer Einstellung hellen, ellipsoidischen, von einer etwas dichteren Cytoplasmahülle umschlossenen Stelle“; A. Meyer nennt letztere „Sporenvakuole“ und sagt: „Wie die Jodfärbung lehrt, ist in diesem Zustande der Zellkern meist an Plasmafäden in der Mitte der Sporenvakuole aufgehängt“ (Fig. 248). In der Spore liegt also der „Sporenkern“. Ferner hebt A. Meyer hervor, daß nicht etwa der Kern wächst und sich zur Spore ausbildet, und daß zwischen dem geschilderten Stadium und der deutlich abgegliederten Spore keine weiteren Uebergangsstadien zu beobachten sind. Außerhalb der Sporenanlage ist gewöhnlich auch noch ein Kern nachweisbar.

Die zur Spore reife „Sporenvakuole“ wird stark lichtbrechend, bekommt scharfe Grenzen und eine helle Zone; das Protoplasma scheint sich um die Spore zu konzentrieren, zugeordnet die Spore etwas kleiner wird; endlich erhält die Spore ein glattes Häutchen und zuletzt die charakteristisch gerippte Exine (*Ectosporium*). In der reifen Spore ist kein Kern mehr nachweisbar.

Auch bei *Bacterium tumescens* findet, nach A. Meyer, die Sporenbildung nach demselben Modus statt, wie bei *Astasia*; A. Meyer schließt hieraus, daß bei den Bakteriaceen die Entwicklungsgeschichte der Sporen in allen Fällen jener der Sporen von den genannten beiden Bakterien und somit auch jener der Askomyceten gleicht.

Mühlschlegel (1900) studierte die Sporenbildung bei dreierlei *Bacilli granulosi*; als Anfang des Prozesses erwähnt er das Auftreten einer „grauen, glanzlosen Masse“ an einem Ende der Zelle; im Zentrum dieser Masse erscheint ein dunkelroter Punkt (Neissersche Färbung), der, sich allmählich vergrößernd, die Sporenanlage erfüllt bzw. in ihre Substanz übergeht. Die Körnchen im Plasma können bis über die Größe einer Spore heranwachsen, besitzen aber nicht den Glanz und die Gestalt von Sporen, sind auch nicht keimungsfähig; Mühlschlegel schließt hieraus, daß an der Sporenbildung sich außer den Körnchen auch das Plasma („Füllsel“) beteilige; „die Vereinigung

(nämlich von Körnchen und Füllsel) wird wahrscheinlich durch einen Kern ausgelöst“. Die Spore rückt nachher gegen die Mitte des Bacillus, und die ihr zunächst gelegenen Körnchen werden kleiner und verschwinden, vielleicht werden sie zur Ernährung der Spore verwendet. Die reife Spore besitzt ein dünnes Ekto- und ein breites, mattgraues Endosporium; Mühlischlegel nimmt an, daß letztere zur Membran des Keimlings wird, während erstere bei der Keimung abgeworfen wird.

Nach Ascoli (1901) erscheint die Anlage der Spore (*Bacillus anthracis*, *subtilis*, *megatherium*) als eine $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ der Zelle einnehmende, unscharf begrenzte Protoplasmaballung von mattem Glanz, die ziemlich rasch, in $\frac{1}{4}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde, zur definitiven Spore wird. Näheres über den Verlauf dieses Prozesses wird nicht angegeben.

Ein Hinweis auf meine Beschreibung und die Abbildungen der Sporenbildung enthebt mich des weiteren Beweises, daß die Sporen der von mir untersuchten Bacillen nicht einfach aus dem Heranwachsen oder Zusammenfließen präformierter Körnchen hervorgeht; dennoch will ich an die wichtigsten Angaben dieser Art einige Bemerkungen knüpfen, da es recht leicht möglich wäre, daß Nachprüfer, zumal sie lediglich nach bakteriologischer Sitte an Trockenpräparaten untersuchen, zu ähnlichen, meiner Ueberzeugung nach ganz irrigen, Ergebnissen gelangen.

Bunge gibt die Abbildung eines Erdebacillus (beim Milzbrandbacillus soll die Sporenbildung ähnlich erfolgen), der erst mit Karbolfuchsin und Schwefelsäure, dann mit Methylenblau behandelt wurde; er enthält einen großen, ovalen, dunkelblau gefärbten Körper und außerdem einige rote Körnchen (Fig. 228); nach Bunge ist jener blaue, ovale Körper die junge Spore, die roten Körnchen hingegen sind überzählige, in den Sporenkörper nicht konfluierende „Vorsporen“. Nun ist aber dieses Bild anders zu deuten; das blaue Oval ist tatsächlich die junge Spore, aber sie ist nicht aus den roten (= säurefesten) Körnchen, sondern auf die von mir geschilderte Weise hervorgegangen, wie man sich an vergleichsweise lebend in dünnen Farblösungen gefärbten Bacillen desselben Wuchses leicht überzeugen kann.

Daß die von Ilkewicz abgebildeten ovalen Körper [oft mit einem sich teilenden „Kern“ (Fig. 231)] nichts anderes sind, als säurefeste Körper, das habe ich bei Besprechung der letzteren bereits erwähnt; die vermutlich sich teilenden Kerne sind die metachromatische Substanz, die, wie ich nachwies, oft Einschnürungen oder auch direkte Teilung erkennen lassen innerhalb eines ovalen, säurefesten Körpers. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind auch die von Löwit im Milzbrandbacillus abgebildeten hellen Körper mit schwarzem Zentrum säurefeste Kügelchen mit je einem metachromatischen Kern (Fig. 225).

Gelegentlich der Beschreibung der säurefesten Substanz habe ich betont und mit Abbildungen beleuchtet, wie sehr dieselbe nach Gestalt und Größe Sporen vortäuschen kann, und ich will nicht verhehlen, daß eine Zeit lang auch ich die Entstehung der Sporen aus säurefesten Körpern annehmen zu müssen glaubte, aber nur so lange, bis ich nicht lebende Bacillen in dünnen Farblösungen untersuchte.

Wie Nakanishi die Entstehung der Spore beim Milzbrandbacillus deutet, habe ich bei Gelegenheit der Literaturangaben kurz referiert; ich darf hier einer Kritik seiner Anschauung um so weniger entsagen, da seine mit schönen Abbildungen erläuterte Arbeit eine der neuesten ist und darin eine Stütze zu liegen scheint für die bereits von anderen

Forschern ausgesprochene Vermutung bzw. Annahme, daß sich an der Sporenbildung ein Kern beteilige.

Die Sporenbildung ist nach Nakanishi „eine intracelluläre Einkapselung des Kernes und des verdichteten perinukleären Cytoplasmas“, nämlich jenes Kernes, den ich als Schottelius-Nakanishis Kern bezeichnete, den ich aber für keinen Kern, sondern für eine verdichtete zentrale Plasmapartie halte.

Nakanishi stellt die Sporenbildung in folgenden schematischen Bildern dar:

1) Langstäbchen, in jeder Hälfte ein axial gelegenes, kurzes, dunkelblaues Stäbchen (= Nakanishis Kerne); es heißt „Beginn der Sporenbildung“ (Fig. 239).

2) Fast ganz so wie 1); es heißt: „Sporenanlage“ (Fig. 240).

3) Langstäbchen, dessen eine Hälfte so beschaffen wie vorher, in der anderen Hälfte ein bohnenförmiges, dunkelblaues Gebilde von der halben Breite des Stäbchens mit noch dunklerem axialen Streifen; es heißt: „junge Spore“ (Fig. 241).

4) Statt der Bohnenform ein dunkelblaues Oval, fast so breit wie das Stäbchen; es heißt: „junge Spore“ (Fig. 242).

Die nächste Figur zeigt eine reife, gelbliche Spore (Fig. 243).

Es entzieht sich zwar einer genaueren Bemessung, wie weit die „schematischen“ Abbildungen Nakanishis den tatsächlich von ihm gesehenen Bildern entsprechen; dessenungeachtet aber ist es nach meinen Beobachtungen klar, daß die Spore des Milzbrandstäbchens nicht auf diese Weise entsteht, sondern daß Nakanishis bezügliche Abbildungen folgendermaßen gedeutet werden müssen:

Die als „Beginn der Sporenbildung“ und als „Sporenanlage“ bezeichneten Figuren (im Original Tafel V, Fig. 3 *a' b'*, in dieser Arbeit Fig. 239, 240) unterscheiden sich durch gar nichts von den Abbildungen, die dem Leser Stäbchen mit zwei axial gelegenen, „kernartigen“ Stäbchen (= unser Zentralplasma) vergegenwärtigen. Es muß sonach ganz unbegründet erscheinen, wenn der eine der „kernartigen“ Stäbchen als „Sporenanlage“ bezeichnet wird; dies geschieht offenbar nur deshalb, weil in anderen Zellen statt des „Kernstäbchens“ bereits ein großer, ovaler Körper von der Größe einer Spore liegt (Fig. 242). Ganz richtig nennt Nakanishi letzteren Körper die „junge Spore“, diese ist aber ebensowenig aus dem von ihm als „Sporenanlage“ bezeichneten „Kernstäbchen“ hervorgegangen, wie Bunges blaues Oval (siehe weiter oben) nicht aus Bungeschen Körnchen entstanden ist, sondern sie hat sich in einem Pole des Bacillus auf die von mir beschriebene Art entwickelt und nachher von der Polkuppe abgelöst; indem sie nun da zu liegen kommt, wo in jüngeren Zellen die zentralen Plasmastäbchen zu liegen pflegen, täuscht sie eine Entstehung aus letzteren vor.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus¹⁾.

[Aus dem Institut für Hygiene der K. Universität in Siena, Direktor Prof. A. Sclavo.]

Von Dr. D. Ottolenghi, Assistenten.

Mit 3 Figuren.

Die feine Struktur des Milzbrandbacillus ist nach verschiedenen Methoden schon von zahlreichen Forschern eingehend studiert worden, die viele interessante Daten über den Gegenstand gesammelt haben. So konnte Bunge²⁾, der die Entwicklung des Milzbrandbacillus bis zur Sporenbildung verfolgte, wahrnehmen, daß in einem ersten Stadium eine nicht ganz deutliche Körnung in demselben besteht, in einem zweiten Stadium lichtbrechende Körnchen in ihm auftreten, die in der Folge zu rundlichen, mittelständigen Körperchen verschmelzen, Körperchen, die sich dann in echte Sporen umbilden. Obgleich sich diese Körperchen auch wie die bekannten Babes-Ernstschen Körnchen färben, unterscheiden sie sich doch von ihnen dadurch, daß sie der siedenden Loefflerschen Methylenblaulösung widerstehen und sich mit ihr färben, während jene durch deren Wirkung zerstört werden. Einige Jahre vorher hatte Nils Sjöbring³⁾ zwei Arten von Körnchen im Körper des Milzbrandbacillus beschrieben: die einen liegen gewöhnlich an der Peripherie und färben sich gut mit einer mit Phenol versetzten Magentarotlösung; die anderen dagegen färben sich mit Phenol-methylenblau und liegen im Zentrum, von einer rundlichen, glänzenden Masse umgeben, die von einer zarten Membran umgrenzt zu sein scheint. Diese Masse und diese zuweilen durch Fäden miteinander verbundenen Körnchen nehmen sich wie wirkliche Keime aus, wie wir solche in den tierischen Geweben zu sehen pflegen, und sollen oft an einige Stadien der Karyokinese erinnernde Variationen darbieten. Auch Růžička⁴⁾ hat Körnchen wahrgenommen, die nach seiner Meinung nicht den in anderen Keimen vorkommenden und als Babes-Ernstsche Körnchen bezeichneten entsprechen.

Ziemann, Zettnow, Feinberg bedienten sich zu ihren Studien der Romanowskyschen Färbungsmethode. Ziemann⁵⁾ gelang es, durch dieselbe einige Körnchen im Milzbrandbacillus zu färben, die er, eben weil sie sich nach der Romanowskyschen Methode rot färbten, eher für Chromatinkörnchen hielt. Nach Zettnows⁶⁾ Untersuchungen dagegen sei das Chromatin in viel größerer Menge vorhanden, da es fast den ganzen Bacillus einnehme, hier und dort unterbrochen und wie mit einer anderen Substanz infiltriert, die sich nach der Romanowskyschen Methode blau färbt. Auch beobachtete dieser Forscher, daß bei den sporentragenden Bacillen der eine Pol sich rot, der andere sich blau färbt; von den Sporen färben sich die jüngeren rot oder blau,

1) Der Accademia dei Fisiocritici vorgelegt am 28. Februar 1903.

2) Fortschr. d. Med. 1895. p. 813.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1892. p. 65.

4) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. 1898. p. 305.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. 1898. p. 945.

6) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899. p. 1.

während die älteren ungefärbt bleiben. Ebenso erhielt Feinberg¹⁾ mit dieser Methode rote Färbung von fast den ganzen Bacillus einnehmenden Körperchen, denen er, auf Grund der mit der Romanowsky'schen Methode an anderen Elementen (Malaria Parasiten u. s. w.) erhaltenen Resultate, die Bedeutung von wirklichen Kernen beimessen zu müssen glaubt. Nakanishi²⁾ hingegen, der die Bacillen in vivo mit Methylenblau färbte, gelangt zu dem Schlusse, daß die Kerne durch äußerst kleine, mittelständige Körperchen dargestellt sind, und er beschreibt auch einige Veränderungen derselben, die er als Erscheinungen von Kernteilung deutet.

Andererseits gelang es vor kurzem Krompacher³⁾, im Milzbrandbacillus nicht nur Körnchen nachzuweisen, die alle Merkmale der Babes-Ernst'schen Körperchen besitzen, sondern auch andere, die bei Anwendung von Phenolmethylenblau Metachromatismus aufweisen und die in genetischer Beziehung mit der Spore zu stehen scheinen. Diese letzteren sind mittelständig, fangen am 2. Entwicklungstage der Kulturen an aufzutreten, nehmen in der Folge an Zahl zu und treten, wenn der Bacillus stirbt, zu Haufen vereinigt, aus ihm heraus.

Hier auch sind die Versuche von G. Ascoli⁴⁾ zu erwähnen, der die Entwicklung des Milzbrandbacillus im hängenden Tropfen studierte und erkannt haben will, daß das Leben dieses Keimes in drei Stadien zerfällt: Das erste Stadium zeichnet sich dadurch aus, daß der Bakterienkörper keine Differenzierung in der Struktur aufweist; im zweiten Stadium treten, bisweilen zu Gruppen vereinigte und gewöhnlich polständige Körnchen im Bakterienkörper auf; im dritten Stadium endlich, in welchem die Sporenbildung stattfindet, drängen sich diese Körnchen an den Polen des Bacillus dicht zusammen, während im Zentrum ein ungefähr die Hälfte oder zwei Drittel der Größe des Bacillus messendes, zuerst einen wenig markierten Kontur aufweisendes Körperchen wahrgenommen wird, das in der Folge kleiner wird und alle Merkmale der Spore annimmt; diese entstände also nicht aus den oben beschriebenen Körnchen, die den von anderen Forschern nachgewiesenen entsprechen und von ihnen gerade für sporogen gehalten werden.

Einen interessanten Beitrag zu diesem Gegenstande haben endlich Dietrich und Liebermeister⁵⁾ geliefert. Diese Forscher beobachteten, daß, wenn man im hängenden Tropfen aufgeschwemmte Milzbrandbacillen etwas 1-proz. Dimethylparaphenylendiaminlösung und darauf eine Lösung von α -Naphthollösung in 1-proz. Sodalösung zusetzt, blau gefärbte Körnchen in den vollständig farblosen Bacillen auftreten. Da solches nicht stattfindet, wenn das Präparat zwischen Objektträger und Deckgläschen angefertigt, d. h. wenn die Anwesenheit der Luft ausgeschlossen ist, und da, wie schon Ehrlich bemerkt hatte, diese durch die Bildung von Naphtholblau bedingte Färbung bei Anwesenheit von aktivem Sauerstoff erfolgt, muß angenommen werden, daß besagte Körnchen den Sauerstoff der Luft aktivieren, Sauerstoffüberträger sind. Die beschriebenen Körnchen treten in den auf Agar und Kartoffeln gezüchteten Bacillen schon sehr frühzeitig, in den in Bouillon gezüchteten später auf, nie in den Bacillen anaërober Kulturen, in denen sich auch

1) Anat. Anz. Bd. XVII. 1900. p. 225.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. 1901. p. 97.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. 1901. p. 385.

4) Deutsche med. Wochenschr. 1901. p. 313.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902. p. 858.

keine Sporen bilden; die Sporen färben sich jedoch nicht nach dieser Methode. Besagte Körnchen stehen in keiner Beziehung mit der Virulenz des Bacillus, erhalten sich bei hoher Temperatur in den abgetöteten Bacillen und widerstehen auch eine Zeit lang dem Javelleschen Wasser, der KOH und NaOH, den Verdauungsfermenten, dem Alkohol, Aether, Chloroform und bestehen, nach den Autoren, aus einer zu den Nukleinen gehörenden oder nukleinartigen Substanz.

Ich nahm das Studium der feinen Struktur des Milzbrandbacillus wieder auf, mich dabei eines nicht fixierten Materials und zur Färbung des Neutralrotes bedienend, das Ehrlich¹⁾ schon 1894 als besonders geeignet zur Färbung von lebenden Zellelementen empfohlen hatte.

Das Neutralrot hatten allerdings schon andere zur Färbung des Milzbrandbacillus zu verwenden versucht, doch ohne bemerkenswertes Resultat. So war es zwar Plato²⁾ durch Anwendung stark verdünnter Lösungen dieser Substanz gelungen, einige Körnchen im Bacillus zu färben, aber die Färbung erfolgte sehr inkonstant und mitunter blieb sie ganz aus, auch wenn in dem ohne besondere Behandlung untersuchten Bacillenkörper zahlreiche Körnchen sichtbar waren. Auch Ernst³⁾ hat sich bei seinen vor kurzem veröffentlichten Untersuchungen über die Struktur der Bakterien, bei denen er zur Färbung vornehmlich Neutralrot anwendete, mit dem Milzbrandbacillus beschäftigt. Sich eines allerdings aus etwas alten (8 Tage bis 7 Monate alten) Kulturen stammenden Materials bedienend, konnte er intensiv rot gefärbte Körnchen und Tröpfchen um den Bakterienleib herum wahrnehmen, die manchmal in solcher Menge auftraten, daß sie dessen Kontur vollständig verwischten. Doch berichtet Verf. nichts über die innere Struktur dieses Mikroorganismus; er sagt nur, daß in demselben Körnchen wahrzunehmen sind, daß aber, ehe diese sich färben, der ganze Bacillus eine diffuse rote Färbung annimmt. Endlich behauptet Himmel⁴⁾ in einer neueren Publikation über das Neutralrot, daß der Milzbrandbacillus, wenn er lebt, diese Farbe in stark verdünnter Lösung nicht fixiere, sie hingegen nur schwach fixiere, wenn er tot ist.

Meine Untersuchungen nahm ich an Kultur- und an im Blute oder in Exsudaten enthaltenen Bacillen vor; im ersteren Falle, und wenn die Kultur auf einem festen Nährmittel angelegt worden war, gebrauchte ich als Zusatzflüssigkeit gewöhnlich Bouillon, und zwar wählte ich Bouillon statt reinen oder NaCl enthaltenden destillierten Wassers, weil der Milzbrandbacillus sich in derselben sehr gut entwickelt und deshalb eine größere Wahrscheinlichkeit bestand, daß seine Struktur keine Veränderung erfähre. Doch bemerke ich gleich, daß, soweit mir dies möglich war, festzustellen, die bei Zusatz von Bouillon und bei Zusatz von destilliertem Wasser erhaltenen Resultate nicht wesentlich voneinander abweichen.

Um die Färbung zu erhalten, zerließ ich einige Körnchen Neutralrot direkt in dem Tropfen Bouillon oder anderer Flüssigkeit, in welchem die Bacillen suspendiert waren, oder ich bediente mich — mit dem gleichen Erfolge — einer 0,5-proz. Neutralrotlösung in Bouillon, indem ich in einem Tropfen derselben das aus einer Kultur auf festem Nährboden stammende Material aufweichte, oder einem solchen das einer

1) Allgem. med. Zentralzeitung. 1894. No. 2.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1901. p. 319.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 1.

4) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 663.

Kultur in flüssigem Nährmaterial entnommene zusetzte. Aus den Untersuchungen ging übrigens hervor, daß die Färbung am besten gelingt, wenn die Präparate zwischen Objektträger und Deckgläschen angefertigt und 1—2 Stunden lang bei 37° gehalten werden.

Die sich mit dem Neutralrot färbenden Teile des Milzbrandbacillus erscheinen unter der Form von Körnchen, unregelmäßig gestalteten Blöckchen und Fäden. Um diese Einzelheiten besser studieren und deren Modifikationen während der Entwicklung des Bacillus gut verfolgen zu können, empfiehlt es sich, eine große Anzahl Präparate von Milzbrandsporen im hängenden Tropfen in Bouillon anzufertigen und sie in feuchtem Raume bei einer Temperatur von 37° zu halten, in verschiedenen Zeitintervallen einige Körnchen Neutralrot der Bouillon zuzusetzen, den Tropfen, in welchem die Sporen gekeimt haben, zwischen Objektträger und Deckgläschen zu schließen und dieses an den Rändern mit etwas Paraffin zu bestreichen, und die Präparate einige Zeit lang bei 37° zu halten, bis die Färbung sich ganz vollzogen hat. Bei der Untersuchung so angefertigter Präparate erkennt man ganz deutlich, daß die Struktur des Bacillus, oder, genauer gesagt, die mit Neutralrot färbaren Teile desselben, sich während der Entwicklung des Mikroorganismus etwas modifizieren.

Nach ungefähr 2-stündiger Inkubation gewahrt man gewöhnlich schon eine große Anzahl kurzer Bacillen, von denen einige an einem ihrer Pole noch den Rest der Spore, aus der sie hervorgekeimt, aufweisen; und in manchen lassen sich kleine rote Körnchen oder unregelmäßig gestaltete Blöckchen erkennen, von denen einige durch sehr zarte, rot gefärbte Fäden miteinander verbunden sind. Etwa 1 Stunde später gewahrt man schon viele, aus 2—3 und mehr Elementen bestehende Fäden. Die kürzesten Fäden haben die gleiche Gestalt, die nach 2 Stunden die eben ausgekeimten Bacillen aufweisen; die längeren Fäden sind in den verschiedenen Segmenten mit großen Körnchen angefüllt, die fast den ganzen Körper einnehmen und mitunter ganz deutlich mittelst rot gefärbter Fädchen zusammenhängen. Das gleiche Aussehen haben viele Bacillen noch einige Stunden später, während Andere mit ganz feinen, besonders an der Peripherie dicht zusammengedrängten Körnchen angefüllt erscheinen, die gegen das Zentrum einen unregelmäßigen, hellen, ziemlich lichtbrechenden Raum lassen; und auch in diesem Falle lassen sich dünne, den Bacillus durchkreuzende und einige Körnchen miteinander in Verbindung setzende Fäden erkennen. Nach 12—16-stündiger Inkubation zeigen die Bacillen äußerst feine Körnchen in ihrem Innern, die bald, wie im vorerwähnten Falle, so zahlreich sind, daß sie den ganzen Bacillus, den zentralen, hell bleibenden Teil ausgenommen, einnehmen, bald weniger zahlreich sind und deshalb ziemlich weit voneinander abstehen, aber doch mittelst zarter Fäden zusammenhängen. Und so bleiben die Dinge noch eine Zeit lang bestehen. Aber nach 64 Stunden in manchen Fällen, nach 40—48 Stunden in anderen und auch eher in noch anderen, gewahrt man einen eirunden Haufen im Innern der Bacillen, bestehend aus Körnchen und kleinen, unregelmäßigen Blöckchen, die durch bald sehr feine, bald ziemlich dicke, in verschiedener Richtung verlaufende und sich kreuzende Fäden miteinander verbunden sind; diese Fäden bilden ein wirkliches Netzwerk, derart, daß das Ganze sich wie ein chromatinarmer tierischer Kern ausnimmt. Im Zentrum des Bakterienleibes bleibt gewöhnlich ein heller Raum, der mitunter von einigen Fäden durchkreuzt wird, oder ein kleines

ebenfalls rot gefärbtes Blöckchen enthält; letzteres liegt entweder ganz frei oder steht, häufiger, mit Fäden in Beziehung, die gegen die Peripherie ausstrahlen und sich mit dem beschriebenen Netzwerk vereinigen, das dann der Membran des Bacillus so nahe kommt, daß es scheint, als stände es in inniger Beziehung mit dieser. Dies ist jedoch nur scheinbar, denn wenn man das Präparat mehrere Stunden sich selbst

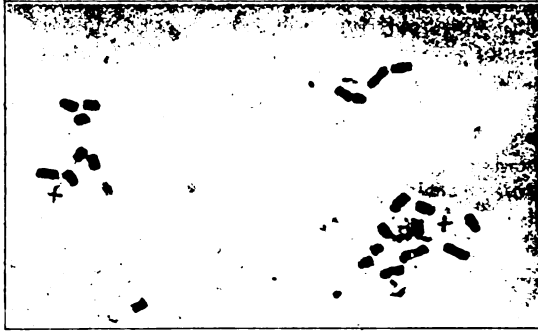


Fig. 1.

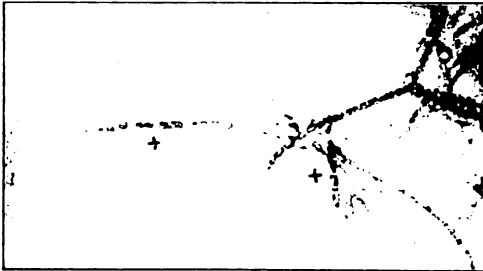


Fig. 2.

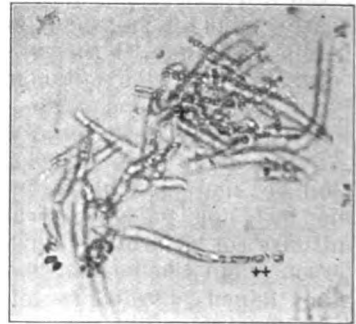


Fig. 3.

Fig. 1. Seit wenigen Stunden von Sporen ausgekeimte, mit Neutralrot gefärbte Milzbrandbacillen.

Fig. 2. Seit 3 Tagen von Sporen im hängenden Bouillontropfen ausgekeimte, mit Neutralrot gefärbte Milzbrandbacillen.

Fig. 3. Von einer 4 Tage alten Agarkultur entnommene Milzbrandbacillen (Färbung mit Neutralrot. ++ Spore mit 2 roten Kapfen).

(Dieselben sind von Herrn Prof. A. Ruffini mittelst seines mikrophotogr. Apparates angefertigt worden, welchem ich dafür zu Dank verpflichtet bin. Die Photographie 1, 3 wurden mittelst des Zeisschen Apochr. 2 mm, das andere mit Koristka halb-apochr. ausgeführt. Die interessantesten Punkte sind mit + gezeichnet.)

überläßt, bemerkt man, daß der ganze gefärbte Haufen eine Schrumpfung erfährt und sich von der Membran etwas zurückzieht, die frei und ungefärbt erscheint.

Noch später endlich, z. B. nach 3—4 Tagen, sieht man innerhalb des Bacillus nur noch ein weitmaschiges Netz, das einen weiten, zentralen, hellen Raum umgrenzend, das Innere der Membran auszutapezieren scheint und das aus verschiedenen dicken Bälkchen besteht und an den

Knotenpunkten oder den Bälkchen entlang mehr oder weniger große Blöckchen und Körnchen aufweist. In diesem Zeitpunkt ist — hinsichtlich der Form — die Aehnlichkeit des mit Neutralrot gefärbten Teiles mit einem tierischen Kern noch ausgeprägter.

Ich sagte, daß das weitmaschige Netz das Innere der Bakterienmembran austapeziert; es läßt sich jedoch nicht mit Sicherheit angeben, ob dem wirklich so ist, oder ob das Netz in innigeren Beziehungen mit der Membran stehe; der Anschein spricht eher für die erstere Deutung.

Zu bemerken ist noch, daß das beschriebene Netz von den Enden des Bacillus durch einen mehr oder weniger weiten hellen Raum getrennt ist; an diesen Stellen besteht also sicherlich kein offener Zusammenhang zwischen der Membran und dem Netze.

Interessant sind auch die Bilder, die man aus alten Kulturen erhält, besonders wenn diese auf schräg erstarrtem Agar angelegt worden sind. Denn bei diesen weisen nach 10—15—20-tägiger Inkubation bei 37° die meisten der mit Neutralrot behandelten Bacillen entweder zahlreiche große, voneinander unabhängige, oder wenige, diagonal zum Bacillenkotour zu Reihen angeordnete Körnchen, oder Haufen von kleinen, unregelmäßigen, zu einem S miteinander vereinigten Schollen, oder einige unregelmäßige, mittelständige und nicht selten sich lebhaft bewegende Haufen in ihrem Innern auf. In anderen Bacillen dagegen sieht man ganz zarte, rot gefärbte Netze mit etwas verdickten Knotenpunkten. Bei Kulturen endlich, die lange Zeit bei Zimmertemperatur gehalten worden, und die gewöhnlich an Degenerationsformen reich sind, so daß die Bacillen ein beulen- oder keulen- oder henkeförmiges Aussehen annehmen, gewahrt man eben ein rot gefärbtes, dem Bacillenkotour folgendes und im Zentrum einen rundlichen Raum umgrenzendes Netz in deren Innern, und im rundlichen Raume erkennt man mitunter ein oder mehrere vom Neutralrot gefärbte Körnchen oder Blöckchen.

Die obige Beschreibung ist etwas summarisch, nicht nur, weil man oft Variationen der angegebenen Figuren beobachtet, jedoch Variationen von geringem Moment, sondern namentlich weil man in einem und demselben Präparat außer Bacillen mit der eigenen Struktur eines gegebenen Entwicklungsmomentes — und diese bilden die Mehrzahl — auch andere mit der Struktur verschiedener Momente erblickt. Diese Differenzen sind wahrscheinlich besonders dadurch bedingt, daß nicht alle Bacillen sich gleichmäßig entwickeln, infolgedessen in einem und demselben Präparat Repräsentanten verschiedener Lebensstadien erscheinen.

Zum Studium der Sporenbildung eignen sich besonders gut die auf schräg erstarrtem Agar angelegten Kulturen. Ich werde hier nur einige Figuren beschreiben, die man bei schon vorgeschrittener Sporenbildung beobachtet; die über die ersten Stadien gesammelten Beobachtungen sind, besonders wegen der Schwierigkeit, den geeigneten Augenblick in der Entwicklung der Kulturen genau zu treffen, noch zu unzuverlässig und fragmentarisch. Nur beiläufig bemerke ich, daß ich Präparate erhielt, die es für sehr wahrscheinlich halten lassen, daß die rot färbbaren Teile eine wichtige Rolle bei der Sporenbildung spielen.

Die charakteristischsten Bilder, die man bei vollzogener Sporenbildung beobachtet, sind folgende: Bacillen, in denen rot gefärbte Schollen und Körnchen an der Peripherie zusammengedrängt liegen, derart, daß sie einen schmalen homogenen, hellen Raum um die Spore herum lassen, die nicht selten ebenfalls rot gefärbt oder doch wenigstens von einer Schicht rot färbbarer Substanz umhüllt ist; ferner Bacillen, in denen

jene Schollen und Körnchen durch eine homogen gefärbte Masse ersetzt sind, als hätten diese sich verschmolzen, welche Masse an den Polen der Spore, mit Interposition einer farblosen Schicht, eine Art Kappe bildet; endlich Bacillen von dem gleichen Aussehen wie die vorgenannten, in denen jedoch die schräg zur Bacillenachse gelagerte Spore im Begriffe auszutreten zu stehen scheint, und andere die noch jene beiden Kappen, aber wegen Austritts der Spore mit vollständig hellem Zentrum, enthalten. Alle diese Figuren finden sich oft gleichzeitig an einem und demselben Bacillenfaden, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß es sich hier um successive Entwicklungsstadien handelt, die vielleicht in der angegebenen Reihe aufeinanderfolgen.

Die erwähnten Einzelheiten lassen sich an auf verschiedenen Nährmitteln (Bouillon, Agar, Agar-Serum, Kartoffeln, Milch) gewachsenen Bacillen leicht beobachten. Die Färbung dagegen mißlang mir fast immer an dem im Milzbrandblute enthaltenen oder im Blutserum gewachsenen Bacillus; nur in wenigen Fällen gelang es mir, ziemlich demonstrative Präparate aus dem Milzbrandblute zu erhalten, und dann erschienen die gefärbten Bacillen mit ganz feinen Körnchen angefüllt oder enthielten nur wenige, rot gefärbte Körnchen und bisweilen, mit diesen zugleich, Andeutungen von einem Netze. Bei Keimen jedoch, die sich aus dem auf einen Nährboden (wie Bouillon oder Agar) übertragenen Milzbrandblute entwickeln, erhält man durch Behandlung mit Neutralrot die gleichen Figuren wie bei den aus Verpflanzungen anderer Kulturen stammenden.

Eine Frage, die aufzuhellen mir besonders interessant schien, war, ob die Färbung des Milzbrandbacillus mit Neutralrot während des Lebens erfolge und die gefärbten Bacillen lebend seien, oder ob es sich um eine postmortale Färbung handle. In der Tat hielt ich die erstere Hypothese für wahrscheinlich, weil die Färbung auch bei aus ganz jungen Kulturen stammenden Keimen erfolgte, und zwar so rasch, daß sie als postmortale ausgeschlossen, oder angenommen werden mußte, daß das Neutralrot eine hochgradige bakterienschädigende Wirkung besitze, was aber damit in Widerspruch stand, daß, wenn Milzbrandsporen in mit Neutralrot stark gefärbter Bouillon ausgesät wurden, immer, wenn auch mit einiger Verzögerung, eine reichliche und progressiv zunehmende Bacillenentwicklung stattfand.

Um die Sache zu entscheiden, war das einfachste Mittel, von einem gänzlich gefärbten Präparat etwas Material auf einen Nährboden zu übertragen und zuzusehen, ob dasselbe sich entwickelte; da aber der Milzbrandbacillus sporogen ist, konnte Entwicklung stattfinden, auch wenn die gefärbten Bacillen nicht mehr lebten, denn es konnten sich ja Sporen bei ihnen befunden haben, die der Wirkung des Neutralrotes widerstanden hatten. Um korrekt zu verfahren, mußten also Bacillen verwendet werden, die weder vor der Behandlung mit Neutralrot noch nach der Färbung Sporen gebildet hatten. Ich verfuhr deshalb auf folgende Weise: ich nahm etwas 20 Stunden alte, nicht sporifizierte Bouillonkultur, brachte sie auf einen sterilen Objektträger, fügte einige Körnchen Neutralrot hinzu und überließ das Präparat, mit einem Gläschen bedeckt, in feuchtem Raume bei 37° 24 Stunden lang sich selbst. Erkannte ich nach 24 Stunden, daß alle im Präparat vorhandenen Bacillen gut gefärbt und anscheinend nicht mit Sporen, die sich in der Zwischenzeit hätten bilden können, versehen waren, so übertrug ich das Material in 2 Bouillonröhrchen, von denen ich das eine bei 37° hielt, das andere

1 $\frac{1}{4}$ Stunden lang bei 55–58° (bei dieser Temperatur und in dieser Zeitspanne werden, nach Versuchen, die ich früher zu anderen Zwecken ausgeführt hatte, nur die Bacillen getötet, nicht die Milzbrandsporen) und dann auch bei 37°. Nach 24 Stunden beobachtete ich stets Entwicklung im ersteren dieser Röhren, nicht im zweiten, in diesem selbst dann nicht, wenn ich es mehrere Tage lang bei 37° hielt. Dies beweist deutlich, daß die Färbung mit Neutralrot sich am lebenden Bacillus vollzieht; denn wäre die Entwicklung im ersteren Röhren nicht von den gefärbten Bacillen, sondern von Sporen ausgegangen, so hätten diese die Erhitzung auf 55–58° überleben und sich auch im zweiten Röhren entwickeln müssen.

Die beschriebenen Einzelheiten lassen sich mit den von den früheren Forschern beobachteten nicht vergleichen, außer vielleicht in einem der Entwicklungsstadien des Bacillus, mit den von Sjöbring durch Färbung fixierten Material mit Phenol-Magentarot erhaltenen Körnchen. Was die von Dietrich und Liebermeister bei Anwendung von Dimethylparaphenylendiamin und α -Naphthol angetroffenen Körnchen anbelangt, die sich nach ihren Angaben auch leicht beobachten lassen — ohne die Möglichkeit auszuschließen, daß manche mit Neutralrot färbbare Körnchen sich auch mit Naphtholblau färben können — handelt es sich sicherlich um ganz andere Bilder, und wahrscheinlich haben wir hier auch andere Bakterienbestandteile vor uns. Denn die von Dietrich und Liebermeister beschriebenen Körnchen treten in den aus Sporen keimenden Bacillen im hängenden Bouillontröpfen bei 37°, nach meinen Beobachtungen, erst um die 13. Inkubationsstunde auf, während die rot färbbaren Körnchen, Schollen und Fäden schon in den eben zur Entwicklung gekommenen Bacillen anwesend sind. Ferner, wenn man nach den beiden Verfahren (Naphtholblaureaktion und Färbung mit Neutralrot) Präparate aus den gleichen Kulturen anfertigt, erkennt man leicht, daß die gefärbten Teile der einen und der anderen Präparate in Form, Größe, Lagerung und in den wechselseitigen Beziehungen ganz voneinander differieren. Diese beiden Präparatserien sind jedoch insofern charakteristisch, als sie sich fast immer gegenseitig ergänzen; denn die mit Naphtholblau sich färbenden Körnchen finden sich eben in jenen, gewöhnlich mittelständigen Räumen, die in den mit Neutralrot behandelten Bacillen ungefärbt bleiben.

Der von mir nach dieser Färbungsmethode erhaltene Befund bezüglich der Struktureinzelheiten bedarf noch einer Ergänzung, besonders durch das Studium des Milzbrandbacillus während der Teilung und der Sporenbildung. In diesem Sinne gedenke ich denn auch meine Untersuchungen fortzusetzen und werde zugleich die Resultate der vitalen Färbung mit den über die Morphologie dieses Keimes bisher von den Forschern gesammelten Beobachtungen in Beziehung zu bringen versuchen¹⁾.

1) Als diese meine Untersuchungen schon bekannt gemacht worden waren, erschien im Archiv für Hygiene (Bd. XLVI. Aprilheft p. 337) eine längere Arbeit von V. Růžicka über die biologische Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhaltes; Růžicka beschäftigt sich in derselben auch mit der Struktur des Milzbrandbacillus und gelangt bezüglich dieses Keimes zu Schlüssen, die hier erwähnt zu werden verdienen. Er bediente sich zur Färbung einer verdünnten Methylenblaulösung und konnte im Milzbrandbacillus „neben den isolierten Körnchen auch öfter solche, die feine Ausläufer zeigen“, wahrnehmen; „sodann längere Fäden, welche vollgepfropft sind mit kleinen, oft punktförmigen Körnchen, schließlich auch die schönsten Netzstrukturen, in welchen die Körnchen die Berührungspunkte der Netzbalken markieren“. Ferner

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der Gasphegmonie.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.]

Von Oberstabsarzt Dr. **Ludwig Kamen**, Vorstand des Laboratoriums.

Mit 3 Tafeln und 1 Figur im Texte.

Eine der schwersten Wundinfektionskrankheiten ist die sogenannte Gasphegmonie oder Gasgangrän, Gasbrand, Gangrène foudroyante.

Die hauptsächlichsten Veränderungen der hiervon betroffenen Körperteile bestehen in einer rasch progredienten, mit Gasbildung im Gewebe verbundenen Nekrose und rasch unter dem Bilde einer schweren Intoxikation eintretendem Exitus.

Sie schließt sich mit Vorliebe an komplizierte Frakturen, namentlich an solche an, bei welchen eine Verunreinigung der Wunde mit Erdreich stattgefunden hat, nicht selten wird aber auch der puerperale Uterus zur Eintrittspforte des Giftes.

Wir können heute daran nicht mehr zweifeln, daß die Aetiologie dieser Prozesse keine einheitliche sei, und daß verschiedene Mikroorganismen diese Art von Gangrän zu erzeugen vermögen.

Legros faßt sein Urteil über diesen Punkt dahin zusammen, daß er sagt:

„Die foudroyante Gangrän ist weder an ein spezifisches Bakterium noch an eine bestimmte Gruppe derselben (Anaërobier) gebunden, da sie auch durch aërobie Mikroben erzeugt werden kann.

Die Zahl der letzteren dürfte mit der Mehrung der bakteriologischen Untersuchungen zunehmen.“

Zu den in Hinsicht auf seine Beziehungen zur Gasgangrän eingehend studierten Mikroorganismen gehört eine Anaërobienart, welche hauptsächlich unter dem Namen „*Bacillus aërogenes capsulatus* Welch“ und „*Bacillus phlegmones emphysematosa* Fraenkel“, kurz auch „Gasbacillus“ genannt, bekannt ist.

Dieser ist aber nicht nur ein Parasit, welcher diesen schweren Prozeß hervorrufen kann, sondern auch ein gelegentlicher Saphrophyt, welcher in den Leichen das an eine postmortale Gasbildung gebundene Auftreten der sogenannten „Schaumorgane“ zu Wege bringt.

Da sowohl in Bezug auf seine Stellung im Systeme der Bakterien als auch in Bezug auf das Wesen und den Charakter seiner parasitischen Tätigkeit die Meinungen der Autoren wesentlich voneinander abweichen, hielt ich es nicht für überflüssig, die sich mir gebotene Gelegenheit, welche mich zwei Stämme des Gasbacillus gewinnen ließ, zum genaueren Studium dieses Mikroorganismen zu benutzen.

Zuvor sei es mir aber gestattet, die Krankengeschichte des Falles, welcher mir den einen Stamm lieferte, in kurzen Zügen zu schildern.

erkannte er, besonders in älteren Kulturen „in einzelnen Stäbchen ein zentrales, in der Längsachse des Stäbchens gelegenes, dunkelgefärbtes Stäbchen“, das sich mitunter ausnahm „als bestände es aus zusammengebackenen Körnchen“. Wie man sieht, bestätigen diese von Ružička bei Anwendung von Methylblau gemachten Beobachtungen gänzlich einen Teil der von mir bei vitaler Färbung des Milzbrandbacillus mit Neutralrot gemachten.

Gendarm — Tit. Postenführer — Ignatz Stoiber, geb. 1871, stürzte bei einem Patrouillengang in der Nacht vom 5. auf den 6. November 1902 gegen 1 Uhr früh in der Dunkelheit in eine 5 m tiefe Grube und brachte sich dabei eine Wunde an der Nase sowie einen Bruch des linken Vorderarmes bei. Die Knochenenden sollen Bluse und Mantel durchbohrt haben. Nachdem er sich erholt hatte, kroch er aus der Grube heraus und ging nach Hause, wo ihm die Bedienerin die Wunden mit Brunnenwasser auswusch. Der später herbeigeholte Arzt legte ihm einen Notverband an, mit welchem er an demselben Tage in das Garnisonsspital No. 1 in Wien transportiert wurde.

Status praesens (laut Spitalsvormerkblatt):

Kräftig gebauter Mann. Befund an den inneren Organen normal. Heftige Schmerzen im linken Arme. Der linke Vorderarm geschwollen und im Vergleiche zu rechts verkürzt. Bei dem Versuche aktiver und passiver Bewegungen deutliche Abknickung im unteren Drittel bemerkbar. Dasselbst starke Druckschmerzhaftigkeit. An der Streckseite des mittleren Drittels eine hellerstückgroße Verletzung der Haut mit unregelmäßigen, gezackten Rändern; die Umgebung blutig unterlaufen. Die Untersuchung mit Röntgenstrahlen ergibt eine vollständige Kontinuitätstrennung der beiden Vorderarmknochen.

Die Verletzung an der Nase zeigt die Charaktere eines Bruches beider Nasenbeine.

Diagnose: *Fractura complicata antibrachii sinistri, fractura ossium nasalium.*

Feuchter Schienenverband.

7. XI. Verband eröffnet, Wunde reaktionslos; leichte Zunahme der Schwellung des linken Vorderarmes. Gründliche Desinfektion der Wunde mit Sublimat, neuerlicher Schienenverband. Temp. 38,1° C. Am Abend leichte Unruhe, Temp. 38,4°.

8. XI. Verband eröffnet, Schwellung zugenommen. Fingerspitzen blau violett verfärbt und unempfindlich. Bewegung der Finger unmöglich. Temp. 38,3°, am abend Zustand unverändert, Temp. 38,6°.

9. XI. Die Haut des linken Vorderarmes stellenweise blauschwarz verfärbt, die Finger blauviolett, kalt. Am Oberarme und auf der Schulter kupferrote Flecke und blauviolette Streifen. Die Epidermis in einzelnen mit Serum gefüllten Blasen abgehoben.

4 Uhr nachmittags. Rapide Zunahme der Erscheinungen. Der linke Vorderarm sowie der halbe Oberarm blauschwarz verfärbt, große Blasen. Die Haut der Schulter stellenweise kupferrot; die linke Hals- und Gesichtshälfte beträchtlich geschwollen. Beim Betasten der Schwellung deutliches Knistern unter den Fingern. Kupferrote Stellen und Streifen auch auf der linken Brusthälfte. Klagen über heftigen Schmerz im linken Arme, Delirien, starker Schweiß. Temp. 40,8°, Puls 132, R. 46.

10. XI. Das Emphysem erstreckt sich über die ganze Brust und das Abdomen. Mehrere flüssige Stuhlentleerungen. Urinsekretion minimal. Gegen 12 Uhr mittags das ganze Gesicht gedunsen. Exitus um 2 Uhr nachmittags.

Um 4 Uhr 30 Min. wurde von mir teils mittels steriler Strohschein-Spritze, teils mittels steriler Glaskapillaren Gewebssaft aus dem Unterhautzellgewebe und der Inhalt einer großen, am linken Oberarme befindlichen Blase aspiriert und sofort verarbeitet.

Die gerichtliche Obduktion des Leichnams fand erst am 12. Nov. um 10 Uhr vormittags, also 44 Stunden post mortem statt.

Von dem sehr eingehenden Obduktionsbefund soll nur das uns Interessierende angeführt werden.

Die Haut im Bereiche des Gesichtes, beider Schultern, der oberen Brustgegend sowie im Bereiche des ganzen linken Armes durch Fäulnis schmutziggrün verfärbt. Die Haut des letzteren teils in schlaffen Blasen abgehoben, teils in großen Fetzen ablösbar.

Am linken Vorderarme, 4 Querfinger oberhalb des Handgelenkes eine annähernd ovale, 2 cm lange, 1 cm breite Wunde, deren Ränder fetzig und deren Grund mißfarbig ist.

Von dieser Wunde setzt sich gegen das untere Drittel der Elle ein für den kleinen Finger durchgängiger Weichteilkanal fort, dessen Wände von mißfarbiger, schmutzigroter und zerfallener Muskulatur gebildet werden. Am Ende dieses Kanales findet sich das obere Stück der an der Grenze zwischen dem mittleren und unteren Drittel etwas schräg und stufenförmig gebrochenen Elle, dessen Knochenende mißfarbig und namentlich im Bereiche des Knochenmarkes schwärzlichgrün verfärbt ist. Die Spitze des unteren Endes ist analog beschaffen.

Die Speiche ist an der entsprechenden Stelle und überdies noch 3 cm höher gebrochen.

Die Muskulatur des Vorder- und Oberarmes von mißfarbigen, schmutzigroten, dem Verlaufe der Muskelfasern entsprechenden Streifen durchsetzt. Das Gewebe hart, zumlich trocken, beim Einschneiden deutlich knisternd.

In den Venen teils nur locker geronnenes, von kleinen Luftblasen durchsetztes Blut, teils einzelne wurstförmige Gerinnsel.

Das Unterhautzellgewebe der linken Schulter und Schultergegend ebenfalls deutlich knisternd, schmutzigrot, zum Teil auch schmutzigrün verfärbt.

In den Blutleitern und den Gehirnvenen flüssiges oder locker geronnenes, von Gasblasen durchsetztes Blut.

Die Milz entsprechend groß, ihre Kapsel stellenweise leicht weißlich verdickt, zum Teil in Form von Blasen abgehoben. Das Gewebe schwarzgrün verfärbt, die Pulpa mäßig reichlich, zerfließend weich.

Beide Nieren entsprechend groß, die Rinde etwas verbreitert, gelbbraun verfärbt, etwas vorquellend, von den blutig durchtränkten Pyramiden ziemlich scharf abgegrenzt, die Konsistenz des Gewebes ist brüchig, die Schleimhaut der Balken und Kelche blutig durchtränkt.

Die Leber größer, ihr Gewebe teils schmutzig graugrün, teils schmutzig gelbbraun, beim Einschneiden knisternd und von zahllosen größeren und kleineren Gasblasen durchsetzt.

Das Herz schlaff, die Muskulatur sehr zerreißlich, teils schmutzigbraun, teils gelbbraun verfärbt.

Die Lungen frei, das Lungenfell mißfarbig, das Gewebe allenthalben lufthaltig, blutreich und blutig durchtränkt, ziemlich feucht. In den Blutgefäßen reichliches, flüssiges, von Gasblasen durchsetztes Blut.

Die übrigen Organe ohne pathologische Veränderungen.

An der Leiche waren demnach, und zwar schon makroskopisch an der Leber Schaumorgane nachzuweisen.

Um nun die Resultate der bakteriologischen Untersuchung besser übersehen zu können, wird es sich empfehlen, dieselben der Reihe nach zu besprechen, und zwar

- 1) zunächst den bakterioskopischen Befund in den Deckglausstrichpräparaten und in den aus den Leichenorganen hergestellten Schnitten;
- 2) das Ergebnis des Kulturverfahrens und
- 3) das Ergebnis der Tierversuche.

Was zunächst die Deckglausstrichpräparate anbelangt, so wurden solche hergestellt

a) aus dem unmittelbar post mortem entnommenen Blaseninhalt und Unterhautzellgewebssafte;

b) aus dem während der Obduktion entnommenen Blute der Vena cava inferior und aus den inneren Organen und zwar Leber, Milz, Niere. Gefärbt wurden die Präparate ausschließlich nach Gram, nachgefärbt mittels verdünnten Karbolfuchsin.

In allen diesen Präparaten fanden sich ausnahmslos teils massenhafte, teils zahlreiche plumpe Stäbchen von der Dicke der Milzbrandbacillen mit abgerundeten Enden, welche hier und da zu kurzen Fäden auswachsen.

In vielen Präparaten, namentlich solchen aus dem Blute und aus den inneren Organen, sind die Bacillen von einem lichten Hofe umgeben. Die ersten Versuche, diese vermeintliche Kapsel zu färben, blieben ohne Resultat; es ließ sich weder nach Bohne, Lüpke, Ribbert, noch mit Hilfe der Geißelfärbemethode von Pittfield, der Sporenfärbemethode von Moeller, wie Albrecht anführt, eine tatsächliche Färbung darstellen. Erst mit der Loefflerschen Geißelfärbung kam man zum Ziele, und es ließen sich damit die Kapseln, wie sie im Photogramm Taf. I, Fig. 8 abgebildet sind, nachweisen.

Neben diesen grampositiven Stäbchen fanden sich noch andere schlankere, welche sich nach Gram entfärbt hatten und zumeist mit einer endständigen ovalen Spore versehen waren.

Am zahlreichsten waren die ersteren in den aus den inneren Organen hergestellten Ausstrichen, insbesondere aus der Milz und Leber, vorhanden.

Teile dieser Organe wurden zunächst in 10-proz. Formalinlösung

fixiert und dann in aufsteigendem Alkohol gehärtet, in Celloidin eingebettet.

Zur bakterioskopischen Färbung der Schnitte bediente ich mich nahezu ausschließlich der Vorfärbung mit Lithiumkarmin und Färbung nach der Güntherschen Modifikation der Gramschen Methode.

Auf diese Weise wurden Schnitte aus Haut und Muskel, aus der Leber und Niere untersucht, da die Milz völlig erweicht war und sich nicht mehr gut einbetten ließ.

Die Hautmuskelschnitte waren aus einem Material hergestellt, welches oberhalb der Bruchstelle am Oberarme einer geschwellten, lividen Partie desselben entnommen wurde.

Die Ober- und Lederhaut zeigen eine gute Kernfärbung, die letztere in den tieferen Schichten gashaltige Räume und einzelne, wenig ausgedehnte kleinzellige Infiltrate.

In die Tiefe nimmt die Kernfärbung immer mehr ab.

Das subkutane Zellgewebe ist infolge Ausdehnung seiner Maschen durch Gas mächtig erweitert; die Maschen wesentlich weiter und sind durch Reißen der Balken größere, gashaltige Räume entstanden. Die Kerne der Bindegewebszellen sind kaum wahrnehmbar, das Bindegewebe von zahlreichen Extravasaten durchsetzt.

An der Grenze zwischen Unterhautzellgewebe und Muskulatur stoßen wir auf die ersten Bakterienansammlungen. Sowohl hier als auch in den tieferen Muskelschichten sehen wir die Bakterienhaufen nahezu ausschließlich in den von Gasblasen durchsetzten, lockeren intramuskulären Bindegewebe, ab und zu kleine, dünne Ausläufer in die zwischen den einzelnen Muskelfasern vorhandenen Spalte entsendend.

Die Muskulatur selbst zeigt Veränderungen, wie sie bei diesem Prozesse einmütig beschrieben worden sind und welche noch später eingehender gewürdigt werden sollen.

Zwischen den Muskelbündeln findet man einzelne Gasblasen, welche sich als mit einem Bakteriensaum versehene Hohlräume im Gewebe präsentieren.

Noch schöner kommt die Bildung dieser von Fraenkel sehr genau beschriebenen, von Bakterien eingesäumten Hohlräume in den inneren Organen vor, in welchen wir alle Arten der Bakterieneinwanderung studieren können. Man findet hier, und zwar beispielsweise in der Leber, eine mehr diffuse Verbreitung zwischen den Leberzellen neben der Bildung einzelner Herde, in deren Mitte häufig eine kleine Gasblase zu finden ist. Daneben große, von einem Bakteriensaume umgebene Hohlräume. Aus den früher erwähnten Bakterienhaufen mit einer zentral gelegenen Gasblase gehen diese letzteren offenbar auf die Weise hervor, daß durch fortgesetzte Gasbildung die kleine Blase einen immer größeren Umfang annimmt und das angrenzende Gewebe, welches nicht ausweichen kann, samt den enthaltenen Bakterien komprimiert wird.

Ganz analog vollzieht sich auch dieser Vorgang in der Niere.

Wenn wir daher das Ergebnis der bakterioskopischen Untersuchung des Leichenmaterials zusammenfassen, so können wir sagen, daß wir ausnahmslos weitaus vorwiegend ein großes Stäbchen von den Dimensionen des Milzbrandbacillus, jedoch mit abgerundeten Enden und selten in Fäden auswachsend, nachgewiesen haben, welches sich nach Gram färben läßt und an dem zunächst betroffenen Organe, der linken oberen Extremität, zu seiner Verbreitung das intramuskuläre Zellgewebe bevorzugt.

Die inneren Organe boten ausnahmslos das Bild der sogenannten „Schaumorgane“.

Schon aus dem Befunde in den Ausstrichpräparaten ging hervor, daß wir es wahrscheinlich mit dem von Welch als „*Bacillus aërogenes capsulatus*“, von Eugen Fraenkel als „*Bacillus phlegmones emphysematosae*“ beschriebenen Mikroorganismus zu tun haben.

Da derselbe ein obligater Anaërobier ist, wurde das Züchtungsverfahren dementsprechend anaërob angeordnet, wenn wir es auch nicht unterlassen haben, zur Kontrolle aërobe Platten anzulegen.

Neben Traubenzucker-Agarplatten, welche im Botkin-Schattenfroh-Grassbergerschen Apparat bei 37° C aufbewahrt wurden, wurden auch Schüttelkulturen aus dem Blaseninhalt, dem Gewebssaft (entnommen am 10. XI.), aus dem Blute, aus Leber, Niere, Milz und Muskel (entnommen 12. XI.) angelegt.

Da von einer später zu erwähnenden Seite die Anwendung der sogenannten Erhitzungsmethode in der Art empfohlen wird, daß man die mit dem Material beschickten Agarröhrchen durch 5 Minuten auf 75° C erwärmt und dann erst zur Platte ausgießen soll, wurden nach diesem Vorgange auch Schüttelkulturen aus dem Blaseninhalt und aus den inneren Organen angelegt und entsprechend erhitzt.

Auf den nach 48 Stunden besichtigten anaëroben Platten kamen dreierlei Kolonien zur Entwicklung:

1) oberflächliche, rundliche, braune, grob granuliert und mit leicht gekerbtem Rande versehene Kolonien. Die dazu gehörigen tiefen Kolonien waren rundlich, oval oder wetzsteinförmig, dunkelbraun, in der Mitte undurchsichtig, nur am Rande durchscheinend und daselbst grob granuliert;

2) oberflächliche, runde, gelbbraune Kolonien mit scharfem Rande und nur angedeuteter feiner Granulierung. Die dazu gehörigen tiefen Kolonien waren rundlich oval oder wetzsteinförmig, braun, ohne Granulierung am Rande;

3) Kolonien von unregelmäßiger, verzweigter Gestalt.

Die erste Art von Kolonien enthielt ziemlich plumpe und große Stäbchen, zum Teil auch septierte Fäden, welche nach Gram gefärbt blieben. Allerdings fanden sich neben gut gefärbten Stäbchen auch einzelne Exemplare, welche wesentlich schwächer waren, die Gramsche Färbung nicht behielten und so den Eindruck hervorriefen, als seien sie nur die ungefärbte Hülle des Bacillus, dessen Protoplasma die Hülle verlassen hatte. Neben diesen Formen sah man noch eine dritte und zwar gut gefärbte, etwas dickere, wie gedunsene und spiralenartig gewundene Gebilde, welche als das Anfangsstadium der Degeneration anzusehen sind (Taf. I, Fig. 5).

Die zweite Art von Kolonien enthielt grampositive Traubenkokken, welche bei weiteren Umzüchtungen keinen Farbstoff produzierten und weißen Mäusen gegenüber nicht pathogen, daher möglicherweise ein avirulenter *Staphylococcus pyog. albus* waren.

Die unregelmäßigen Kolonien bestanden aus gramnegativen Stäbchen, welche schon, wenn auch in spärlichen Exemplaren, eine teils beginnende, teils vollendete Sporenbildung zeigten und etwas schlanker waren als die grampositiven.

Die aëroben Platten enthielten nur spärliche Kolonien der Traubenkokken.

Ein ganz analoges Resultat lieferten auch die Schüttelkulturen, wobei naturgemäß die oberste Schicht des Agars nur von Staphylokokkenkolonien eingenommen war.

Der Zuckeragar war schon nicht ganz nach 24 Stunden durch Gasblasen völlig zerklüftet, und das oberste Stück bis zum Wattepfropfen hinaufgetrieben. Ein säuerlich-ranziger Geruch war sowohl in den Röhren als an den Platten wahrnehmbar.

In den Röhren, welche durch 5 Minuten auf 75° erwärmt wurden, ging jedoch nur eine Art von Kolonien an, und zwar eines grampositiven, sporenbildenden Bacillus.

Die weiteren Uebertragungen geschahen auf Zuckeragar, Zuckergelatine, Zuckerbouillon und andere später zu erwähnende Nährböden.

Da sowohl der Staphylococcus als auch der anaerobe grampositive Bacillus sich auch in großen Dosen als harmlos erwies, will ich hier von deren weiteren Schilderung absehen.

Der zuerst erwähnte grampositive, anaerobe Bacillus, welchen wir von Haus aus für identisch mit dem Gasbacillus Fraenkel hielten, wächst auf den angewendeten Nährböden in typischer Weise.

In Zucker-Agar-Stichkultur zeigt er Wachstum in einer für Anaerobe charakteristischen Art; indem dasselbe nie an der Oberfläche stattfindet und in der Regel ca. 1 cm unter der letzteren beginnt. Bei reichlicher Gasproduktion, welche schon in den ersten 24 Stunden im Brutofen ansetzt, kommt es mitunter zum Wachstum bis knapp an die Oberfläche und ist dies jedenfalls der Verdrängung des vom Nährboden absorbierten Sauerstoffs durch das gebildete Gas zuzuschreiben. Durch die lebhaft Gasproduktion wird der Nähragar nach allen Richtungen hin zerklüftet und einzelne Teile des Agarcylinders bis an den Wattepfropfen hinaufgetrieben.

In Traubenzuckerbouillon findet bei 37° C Wachstum statt nur unter anaeroben Verhältnissen. Diese wurden von uns in der Weise erreicht, daß die Bouillon in Eprouvetten mit flüssigem Paraffin, mit welchem die Röhren sterilisiert wurden, überschichtet, dann unmittelbar vor dem Gebrauche nochmals ausgekocht und überdies nach der Impfung der Röhren (in der Regel mit 24-stündiger Agarkultur) dieselben nach der von Wright angegebenen Methode (Herabstoßen des Wattepfropfens, Tränken desselben mit $\frac{1}{2}$ ccm 50-proz. Pyrogallussäurelösung, dann mit 1 ccm 33-proz. Natronlauge, rascher Verschuß des Röhrens mit einem Kautschuckpfropfen) versorgt wurden.

Größere Quantitäten Kultur wurden in Erlenmeyerschen Kolben, welche sterile Bouillon mit Paraffin überschichtet enthielten, unter Wasserstoff gezogen.

Bei beiden Anordnungen tritt in 24 Stunden eine diffuse Trübung der Bouillon und reichliche Gasbildung ein, die sich in dem Schaumigwerden des Paraffins ausprägte. Das Maximum der Entwicklung ist in 48 Stunden erreicht und fangen schon am 3. Tage die Bakterienmassen zu sedimentieren an. Nach mehreren Tagen sieht man am Boden des Kulturgefäßes ein starkes Depot von Bakterien, über welchem die wohl heller, jedoch nicht ganz klar gewordene Bouillon steht. Die Kulturen verbreiten einen ausgesprochenen Geruch nach Buttersäure.

Auch auf Zuckeragarplatten findet eine lebhaft Gasproduktion statt, welche sich dadurch äußert, daß die Agarschicht durch das zwischen dem Nährboden und Glas sich ansammelnde Gas blasenartig abgehoben wird, was der Kultur ein für Gasbildner charakteristisches Aussehen ver-

leicht. Bei der Züchtung von Plattenreinkulturen hat uns die Anordnung von Ahrens (Verwahren der Platten im Exsikkator, der zu $\frac{2}{3}$ mit nicht zu feinkörnigem, mit trockener Pyrogallussäure vermengtem Sand gefüllt wird, den man dann mit 10-proz. Kalilauge befeuchtet) bessere Dienste geleistet, als das Halten der Platten im Botkinschen Apparat.

Ich habe mir die Anwendung dieser Methode dadurch wesentlich erleichtert, daß ich derselben folgende Anordnung gab:

Ein ca. 21 cm hohes sogenanntes Präparatenglas von 12 $\frac{1}{2}$ cm lichter Weite mit abgeschliffenem Rande wird nicht ganz zur Hälfte mit grobem Sande gefüllt und dieser sodann mit 50 g Pyrogallussäure gleichmäßig vermischt. Nachdem nun der Rand des Glases dick mit Vaseline bestrichen wurde, benetzt man den Sand mit ca. 150 ccm einer 10-proz. Kali- oder Natronlauge, setzt die Kulturgefäße (Petri-Schalen ohne



A.

B.

Deckel mit der Oeffnung nach abwärts in einem Gestelle) in das Gefäß, legt rasch die Spiegelscheibe von 3—5 mm Dicke auf den mit Vaseline bestrichenen Rand und umgibt diesen mit einem festen, breiten Gummiband.

Mit der Anwendung des letzteren ist jedoch der Uebelstand verbunden, daß der Gummi infolge der Einwirkung des Fettes bald brüchig wird und das Band reißt.

Ich habe daher eine einfache Vorrichtung konstruiert, welche aus der Abbildung B ersichtlich ist und aus einem dreiarmligen Hebel besteht, in dessen Mitte eine Schraube angebracht ist, welche die Spiegelscheibe bis zum luftdichten Verschuß an den Glasrand andrückt¹⁾.

In diesen Gefäßen erhielten wir selbst die schönsten Tetanuskulturen

1) In der neuesten Zeit habe ich die Vorrichtung dadurch wesentlich verbessert, daß ich an den Enden der Bügelarme Stellschrauben anbringen ließ, mittels welcher die Glasplatte energisch an den Gefäßrand angepreßt werden kann.

auf schrägem Zuckeragar, während uns solche im Botkinschen Apparat oft mißlingen.

Bei den vorzüglichen Diensten, welche mir diese Anordnung des Ahrenschen Verfahrens geleistet hat, erscheinen meiner Ansicht nach alle anderen wesentlich kostspieligeren Methoden der anaëroben Züchtung überflüssig.

Ein gutes, wenn auch wesentlich langsames Wachstum zeigt unser Bacillus in der Traubenzuckergelatine. Der anaërober Charakter ist hier mehr ausgeprägt als im Zuckeragar, weil das Wachstum im Stichkanal nie an die Oberfläche heranreicht. In einigen Tagen treten Gasblasen auf, welche allmählich zur Zerklüftung des Nährbodens führen.

In Bezug auf die von den meisten Autoren angegebene Verflüssigung der Gelatine habe ich so viel wahrnehmen können, daß das Verhalten selbst eines und desselben Stammes sehr inkonstant ist und von verschiedenen Faktoren abzuhängen scheint. Den größten Einfluß üben hier, wie auch anderswo, die Konsistenz der Gelatine und die Züchtungstemperatur aus.

Ich habe bei den meisten Kulturen, welche bei 22—23° C gehalten wurden, nach 6—7 Tagen die ersten Anzeichen von Gasbildung, welche in der Folge allmählich bis zur völligen Zerklüftung des Nährbodens führt, beobachten können; erst später erlangt die Gelatine eine weichere Konsistenz und wird schließlich in eine Masse von syrupartiger Konsistenz umgewandelt.

Hat die Kultur die Tendenz zur Bildung von Scheinfäden, so kann man mitunter wahrnehmen, daß im Beginne der Erweichung die Fadenschleifen zu langen, in die Gelatine hineinwachsenden Borsten auswachsen (Taf. II, Fig. 16). Daß die Konsistenz des Nährbodens hier eine große Rolle spielt, konnte man sich dadurch überzeugen, daß die Borstenbildung in einer 5-proz., also weniger festen Gelatine ausnahmslos eintritt.

Eine trichterförmige Verflüssigung sah ich bei diesem Stamme nie. Die Verflüssigung war in der Regel so langsam, daß sie der Verdunstung nicht die Wage hielt und infolgedessen in einem Zeitraume von 4—6 Wochen in der Kultur große Hohlräume entstanden.

Die Gelatinekulturen sind auch noch nach 6 Wochen übertragbar.

Auch in Milch wächst der Mikrobe gut, wenn wir sichere Resultate auch nur dann erzielen, wenn wir durch die Milch Wasserstoff durchgeleitet hatten. Bei einfachem Auskochen in der von Schattenfroh und Grasberger angegebenen Anordnung, welche das Einsäen des Materials in die tieferen Schichten der Milch gestattet, aber auch nicht neu ist, insofern sie schon im Jahre 1894 von Gärtner in Heidelberg angegeben wurde, mit oder ohne Paraffinüberschichtung, blieb die Entwicklung manchmal aus.

Unter lebhafter Gasentwicklung wird die Milch in 24—48 Stunden zur vollständigen Gerinnung gebracht.

Tierversuche wurden mit Reinkulturen sowie mit den Krankheitsprodukten gemacht. In dem nachstehenden Verzeichnis bedeutet Anaërobier II den sporenbildenden Bacillus.

Meerschweinchen I (530 g): 11. XI. ca. 1 Tropfen Zellgewebsaft von der Leiche verdünnt auf 1 ccm mit Bouillon, subkutan. Keine Reaktion. — Am 16. XI. 2 ccm verflüssigte Gelatinekultur aus dem Blaseninhalt mit zahlreichen Kolonien des Gasbacillus subkutan. Keine Reaktion.

Meerschweinchen II (620 g): 16. XI. 2 ccm verflüssigte Gelatinekultur aus Blaseninhalt, subkutan. Keine Reaktion.

Meerschweinchen III (545 g): 20. XI. 5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur (unter H) von Anaërobier II. Keine Reaktion. — 29. XI. 1,5 ccm Bouillonkultur von Staphylokokken, intraperitoneal. Keine Reaktion.

Meerschweinchen IV (630 g): 21. XI. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur (unter H) von Anaërobier II, subkutan. Keine Reaktion. — 29. XI. 1 1/2 ccm Bouillonkultur von Bacillus II und 1 ccm Staphylokokkenkultur intraperitoneal. Keine Reaktion.

Meerschweinchen V (583 g): 7. XII. 5 ccm Bouillonkultur von Bacillus II, subkutan. Keine Reaktion.

Meerschweinchen VI (580 g): 7. XII. 5 ccm Bouillonkultur von Gasbacillus, subkutan. † in der Nacht vom 8. auf 9. XII. Obduktion am 9. XII. um 5 Uhr nachmittags.

Die Haut über der Brust und dem Bauche von der Unterlage blasenartig abgehoben, die Blase mit einer blutig tingierten, mit fettartigen Flocken untermengten Flüssigkeit gefüllt. Das angrenzende Unterhautzellgewebe von einem sulzigen Oedem durchsetzt, die Bauchmuskulatur blaß, gelblich rot. In der linken Herzkammer Fibrin; in der rechten dunkle Blutgerinnsel.

Die Lungen blaß.

Die Leber weich, zerreißlich.

Die Nierenzeichnung verschwommen.

Die Milz nicht vergrößert, zerreißlich. Keine Schaumorgane.

Die Gasbacillen waren reichlich, nicht nur in den Ausstrichen aus Blaseninhalt und Oedem, sondern, wenn auch in geringerem Grade, in den Ausstrichen aus den inneren Organen nachweisbar.

Kulturen aus Blaseninhalt, Blut, Oedem, Leber und Niere fielen sämtlich positiv aus.

Meerschweinchen VII (320 g): 9. XII. 2 ccm einer Emulsion des sulzigen Oedems von Meerschweinchen VI in phys. NaCl. † am 20. XII. unter den Zeichen einer hochgradigen Abmagerung. Bei der Sektion keine krankhaften Veränderungen. Gasbacillen weder mikroskopisch noch kulturell nachweisbar.

Meerschweinchen VIII (495): 16. XII. 5 ccm 3-tägige Bouillonkultur von Gasbacillus, subkutan. † in der Nacht vom 19. auf den 20. XII. Befund wie bei M. VII. Die Gasbacillen fanden sich massenhaft in Ausstrichpräparaten aus dem Blaseninhalt, der zerfallenen Muskulatur, einzeln in Ausstrichen aus Leber, Milz, Niere, Lunge, keine im Blute.

Kulturen fielen aus dem Blaseninhalt, Muskel, Leber und Blut positiv aus. Daneben ging in einzelnen Kolonien das Bacterium coli auf.

Meerschweinchen IX (510 g): 23. XII. 3 ccm 24-stündige Bouillonkultur (Pge. VIII) von Gasbacillus, subkutan. Keine Reaktion.

Meerschweinchen X (545 g): 23. XII. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur (Pge. VIII), subkutan. † 25. XII. um 6 Uhr früh. Obduktion um 8 Uhr 30 Min. Befund wie früher.

In Ausstrichen aus Blaseninhalt, Muskel massenhafte, im Herzblute keine Gasbacillen. Kulturen aus Blaseninhalt positiv.

Meerschweinchen XI (524 g): 29. XII. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur (Pge. X). † 30. XII. in der Frühe. Wird durch 24 Stunden im Brutofen bei 37° C liegen gelassen.

Obduktion am 31. XII. Zeichen von hochgradiger Fäulnis, die Leiche gedunsen, stinkend.

Der lokale Befund wie bei den früheren Tieren. An der Leber schon makroskopisch deutliche Schaumorganbildung.

Gasbacillen reichlich im Blaseninhalte, Muskel- und Leberausstrich.

Kulturen aus Blaseninhalt, Blut und Leber positiv; daneben *Bacterium coli*.

Meerschweinchen XII (649 g): 29. XII. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur von *Bacillus II*. Keine Reaktion.

Meerschweinchen XIII (550 g): 29. XII. 2 ccm *Bacillus II* und 3 ccm *Gasbacillus* (Pge. X), 24-stündige Bouillonkultur, subkutan. † in der Nacht vom 2. auf den 3. I. Bis Nachmittag im Brutofen (37° C). Die Obduktion an demselben Nachmittag. Die pathologischen Veränderungen bedeutend weniger ausgeprägt. Haarausfall am Bauche. Die Haut auf der Brust und am Bauche abgehoben, in der Tasche nur wenig Flüssigkeit, sondern eine schmierige fettige Masse in ungleicher Verteilung. Die angrenzende Muskulatur gelblich, das Peritoneum diffus gerötet. Keine Schaumorgane. Deckglaspräparate aus dem Herzblute und inneren Organen negativ. Nur in den Ausstrichen aus der veränderten Muskulatur einzelne grampositive Stäbchen. In den Kulturen aus Blut, Muskel und Leber einzelne Kolonien von *Gasbacillus* neben *Coli* und großen Kokken.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Anaërobiosis.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi** und **E. Bassu** (stud.).

I. Abhandlung.

In seinen klassischen Untersuchungen (1861) über das Verhalten der Saccharomyceten und der Bakterien dem Sauerstoffe gegenüber teilte Pasteur die Mikroorganismen biologisch in zwei Klassen ein:

Die Aërobien, die nur bei Sauerstoffzutritt, und die Anaërobien, die ohne Sauerstoff leben können.

Viele Versuche sind in der Folge angestellt worden, um die Einteilung zu kontrollieren; Nencki und andere bestätigten dieselbe. Liborius änderte sie, indem er die Mikroorganismen in absolute Aërobien, absolute Anaërobien und in fakultative einteilte; und einer von uns (Fermi) teilte sie ein in Oxygenophile, Oxygenophobe, Paraoxygenophobe.

Es ist bekannt, auf welch zahlreiche und große Schwierigkeiten man stößt, um in einem Gefäße feste oder flüssige Substanzen vollständig sauerstofffrei zu erhalten.

Es genügt, daran zu erinnern, daß der Sauerstoff dem Glase so stark anhaftet, daß er vollständig nur bei einer äußerst hohen Temperatur (300—400°) von demselben entfernt werden kann. Wenn man einerseits bedenkt, daß diese Schwierigkeiten bei den bakteriologischen Untersuchungen sich steigern und jene physikalischen und chemischen Mittel weggelassen werden, welche schon von selbst die Entwicklung der

Mikroorganismen verhindern könnten, abgesehen von der Abwesenheit des Sauerstoffes, und wenn man andererseits die große Anzahl der von den verschiedenen Autoren ersonnenen Methoden, eine strenge Anaërobie zu erlangen, ins Auge faßt, so ist es leicht verständlich, daß der Wert der erwähnten Einteilungen nur relativ ist.

Dies geht außerdem auch aus der Tatsache hervor, daß als absolute Anaërobier bezeichnete Mikroorganismen sich auch in aërobischer Kultur entwickeln.

Wir sehen in der Tat, daß trotz dieser Einteilung Kedrowsky auch beim Vorhandensein von Sauerstoff die Entwicklung von absoluten Anaërobiern erlangte; ebenso Kitt den *B. anthracis symptomatici* und Braatz¹⁾ den Tetanusbacillus.

Außerdem bewiesen Belfanti und Pescarolo²⁾, daß der von ihnen isolierte Bacillus, gleich dem Nicolaiers, der dem Blute eines von Tetanus befallenen Individuums entstammte und der fähig war, bei Tieren konvulsive Erscheinungen hervorzurufen, nicht als ein absoluter, sondern als ein fakultativer Anaërobier betrachtet werden muß.

Sanchez, Toledo und Veillon³⁾ bemerken, daß in alten Kulturen bei hoher Schicht, nach Art und Weise von Liborius, der Tetanusbacillus sich auch auf der freien Oberfläche des Kulturbodens entwickelt.

Auch Vaillard und Vincent⁴⁾ studierten später die Wirkung der physikalischen Faktoren auf den Tetanusbacillus und stellten fest, daß zu dessen Entwicklung eine vollständige Entfernung des Sauerstoffes nicht nötig ist.

Grixoni behauptet, den Tetanusbacillus in aërobischem Zustande isoliert zu haben. Auch Ferran hat beobachtet, daß man den als absolut anaërobisch angesehenen Tetanusbacillus auch in aërobischem Zustande erhalten kann. Diese Tatsache bestätigen auch Sanfelice und Valagussa.

In seiner Arbeit: *Les organismes anaërobie obligatoires ont-ils besoin d'oxygène libre?* hat Beijerinck⁵⁾ mit dem *Granulo-Bacterium butyricum* Versuche angestellt und gefunden, daß die Entwicklung nicht nur bei Gegenwart, sondern auch bei Abwesenheit von Sauerstoff stattfindet, sondern daß genannter Mikroorganismus auch bei Gegenwart von Sauerstoffspuren bedeutend aktiver ist.

Der Hauptzweck dieser unserer Untersuchung ist, vollkommenere anaërobie Methoden, als die bisher beschriebenen, zu finden, nicht, um die Technik der anaërobie Züchtung zu verbessern, denn diese ist ausreichend, wenigstens in Bezug auf die Isolierung und die Kultur sämtlicher bekannten Anaërobier, sondern um die folgenden zwei Probleme erforschen zu können:

Gibt es Mikroorganismen, welche sich bei vollständiger Abwesenheit von Sauerstoff entwickeln?, d. h. ist das Leben bei vollständiger Abwesenheit von freiem Sauerstoff möglich?

Wir haben daher im ersten Teile der Arbeit eine Reihe von Kontrollversuchen in Bezug auf die verschiedenen bekannten Methoden

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 168.

2) Giorn. della r. accad. med. di Torino. 1898. Mai.

3) Arch. méd. exper. 1890. p. 709.

4) Ann. d'igiene sperim. della r. Università di Roma. Vol. VIII. p. 406.

5) Archives Néerlandaises. T. II. Sér. 2. 1899. p. 397.

der Anaërobierkulturen angestellt, während wir im zweiten Teile auf Grund einer kritisch-experimentellen Untersuchung einige neue Methoden ersonnen haben.

Anordnung der verschiedenen Versuche.

A. Kontrollversuche für die verschiedenen bekannten Methoden der Anaërobiöse.

B. Neue Methoden.

Erste Methode: Abänderungen und Ergänzungen der von Fermi zusammengestellten Methode.

a) Versuche über die Entfernung des Sauerstoffes durch Aufkochung der Nährböden: Agar, Fleischbrühe, Gelatine;

b) Versuche mit Oel, Vaseline, Paraffin bei der Verhinderung des Sauerstoffzutrittes;

c) in Kulturtröhrchen, welche verkehrt in Kali pyrogall. gesetzt wurden;

Zweite Methode: Zusatz von Kali pyrogall. zum Nährboden.

Versuche, um die kleinste Dosis der den Nährböden beizufügenden Pyrogallussäure zu bestimmen, welche von einigen Mikroorganismen ertragen werden kann.

Dritte Methode: Vereinigung der ersten und zweiten Methode.

Vierte Methode: Bindung des O² durch Phosphor.

Fünfte Methode: Wirkung des Chromchlorur.

Sechste Methode: Bindung des O² durch die kombinierte Wirkung von Chromchlorur oder Kali pyrog. Blastomyceten.

A. Kritik der bekannten anaërobischen Methoden.

Die bisher bekannten Methoden, um anaërobische Kulturen zu erhalten, lassen sich in folgende Gruppen zusammenstellen:

I. Nährböden, welche von Natur aus wenig Sauerstoff enthalten: Eier (Hueppe).

II. Sauerstoffentfernung durch die Quecksilberluftpumpe (Gruber, Chauveau).

III. Sauerstoffentfernung durch Aufkochen (Liborius).

IV. Sauerstoffentfernung durch feste Substanzen oder luftdichte Flüssigkeiten (Koch: Glimmerplatten; Sanfelice: Glasplatten; Lubinski, Nikiforoff: Objektträger für hängenden Tropfen; Braatz: Objektträger; Hesse: Gelatine oder Oel; Esmarch: aufgerollte Kulturen).

V. Ersatz der in den Kulturen enthaltenen Luft durch andere Gase: Wasserstoff, Kohlensäureanhydrit (Fuchs, Blucher, Buchner, Fraenkel, Botkin, Gruber, Hueppe, Petri-Maassen, Roux, L. Heinz, Kitasato).

VI. Aufsaugung des freien Sauerstoffes durch chemische, im Nährboden gelöste Substanzen (Kitasato: Glykose 2 Proz., ameisensaures Natron 0,3—0,5 Proz., Weil: Indigschwefelsaures Natron 0,1 Proz., reines Resorcin 0,1 Proz.).

VII. Absorbierung des freien Sauerstoffes durch chemische Stoffe, die außerhalb des Nährbodens liegen (Buchner, Fermi: Kal. pyrogall.; Drossbach: Chromacetat; Eisenoxydul).

VIII. Gemischte Kulturen von Aërobiern und Anaërobiern (Roux, Salomon).

IX. Kombinierte Methode (Fermi: Entfernung des Sauerstoffes durch Hitze und durch eine Schicht von Paraffin, Vaseline oder Oel mit Kal. pyrogall.).

Ausgehend von diesen hauptsächlichsten Methoden der anaërobischen Kulturen, haben zahlreiche Forscher auf diesem Gebiete viele andere

ausgedacht, welche wir alle in unserer kritischen Untersuchung durchnehmen werden.

I. Methode: Mit Eiern (Hueppe).

Daß die Eier von Natur aus Sauerstoff enthalten, bedarf keines Beweises.

II. Methode: Entfernung des Sauerstoffes im durch die Quecksilberluftpumpe erhaltenen Vakuum (Gruber, Chauveau).

Die auf diesem Wege erlangte Anaërobie kann nicht vollständig sein, da, wie bekannt, im Vakuum immer Residualluft zurückbleibt. Infolgedessen ist auch die von Leo Zupnik beschriebene Methode unvollkommen, da sie auf dem mittels Quecksilberluftpumpe erhaltenen Vakuum beruht.

III. Methode: Entfernung des Sauerstoffes durch Abkochen des Nährbodens.

Diese zum ersten Male von Liborius ausgeführte Methode bietet ein gutes Mittel, den Sauerstoff aus dem Nährboden zu entfernen, was auch die von Sanfelice¹⁾ angestellten Versuche beweisen, reicht aber nicht hin, eine absolute Anaërobiosis zu schaffen.

Sogar die Methode Fermis, welche uns die besten Resultate gegeben hat, ist nicht im stande, den freien Sauerstoff vollständig aus dem Nährboden zu entfernen; folgender Versuch liefert den Beweis:

1. Versuch: Entfernung des O² durch das lange Sieden.

Nach dem Abkochen des Nährbodens während mehr als 1 Stunde und mit Zuhilfenahme einer Paraffinschicht, die, als Ventil fungierend, das Abströmen des Sauerstoffes erlaubte, aber ein Zuströmen verhinderte, gossen wir auf den Nährboden selbst einige Tropfen einer Lösung von Pyrogallussäure, welche vorher abgekocht war, dann ließen wir ein Stück Kalihydrat darauf fallen, welches vorher in einem Vaseline und Paraffin enthaltenden Gefäße erwärmt worden war.

Resultat: Sobald das Kalihydrat mit der Lösung von Pyrogallussäure in Berührung kam, zeigte sich eine Schwärzung der Mischung, wenn auch nicht sehr deutlich im Vergleiche zu dem nicht aufgekochten Kontrollstück. [G. Ampola und C. Ulpiani²⁾ haben eine ausgezeichnete, auf Abkochen beruhende Methode vorgeschlagen, die aber unserem Zwecke nicht entspricht. Sie lassen den Nährboden kochen und ermöglichen durch kleine Hähne das Ausströmen des Sauerstoffes und verhindern den Kontakt des Nährbodens mit der atmosphärischen Luft.

IV. Methode: Entfernung des Sauerstoffes durch feste oder flüssige luftdichte Körper.

Die Methode wurde von vielen Forschern angewandt. Koch benutzte Marienglasscheiben zur Deckung der Kulturen; Sanfelice Glasscheiben; Lubinski und Nikiforoff Objektträger für hängenden Tropfen; Braatz Objektträger; Hesse goß Gelatine oder Oel auf die Kulturen; Esmarch nahm aufgerollte Kulturen, füllte sodann das Rohr mit sterilisiertem Paraffin oder Oel.

Eine neue Methode wurde von Ry. James H. Wright³⁾ vorge-

1) Ann. ist. d'igiene sperim. della r. Università di Roma. Vol. II. Serie nuova. Fasc. 4.

2) Riv. d'igiene e san. pubbl. Anno 1899. p. 907.

3) A simple methode for anaerobic cultivations in fluid media. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 74.

schlagen. Er stellte flüssige Kulturen in Gummirohren innerhalb der Reagenzgläschen, saugt den Sauerstoff auf und verschließt, indem er den freien Teil des Gummi abbiegt.

Es ist leicht zu begreifen, daß diese einfachen mechanischen Mittel zu einer vollständigen Entfernung des Sauerstoffes nicht ausreichend sind.

In der Tat ist es, in Bezug auf die Methode der übereinandergelegten Scheiben, bekannt, daß die Mikroorganismen sich sowohl an der Peripherie wie im Zentrum entwickeln können.

Zur Kontrolle dieser Methoden haben wir folgende Versuche angestellt:

2. Versuch mit Uebereinanderlegung der Scheiben.

Wir nahmen Bodenübertragungen auf äußerst dünne Agarschichten auf Objektträgern vor, bedeckten sie mit breiten Deckgläsern und bestrichen, um die Verbreitung des Sauerstoffes von außerhalb zu verhindern, die Kultur ringsherum.

Resultat: Bedeutende Kolonienentwicklung auf dem ganzen Kulturboden.

Dieses Resultat, welches wir nie infolge des Processes der streng anaërobischen Kultur erhalten haben, zeigt deutlich das Unvollkommene der geprüften Methode.

Was die Supraposition von Paraffin, Vaseline oder Oel auf das Substrat betrifft, so ist das Vorhandensein von Sauerstoff in der Kultur bei dieser Versuchsanordnung augenscheinlich.

3. Versuch: Ueber Supraposition von Paraffin, Vaseline und Oel auf dem Substrate.

Wir gossen einige Kubikcentimeter Lösung von Pyrogallussäure in ein Reagenzglas, der übrige Teil derselben wurde mit Paraffin, Vaseline oder Oel, die ebenfalls aufgekocht waren, gemischt; sodann ließen wir ein Stück Kalihydrat, welches zuvor in einem mit einer der genannten Substanzen gefüllten Gefäße erwärmt wurde, fallen.

Resultat: Sobald das Stück Kalihydrat in Berührung kam mit der Pyrogallussäure, entstand eine Schwarzfärbung der Mischung.

V. Methode: Ueber den Ersatz der Luft durch andere Gase: Wasserstoff, Kohlensäureanhydrit (Fuchs, Blücher, Buchner, Gruber, Fraenkel, Botkin, Hueppe, Petri-Maassen, Roux, L. Heinz, Kitasato).

Diese von verschiedenen Forschern nach vielen Seiten veränderte und vervollständigte Methode läßt immer eine nachweisbare Menge Sauerstoff in den Kulturen zurück, was die folgenden Versuche bestätigen werden:

4. Versuch: Ueber den Ersatz der Luft in der Kultur durch Wasserstoff.

In diesem Versuche bedienten wir uns des Botkinschen Apparates für Plattenkulturen. Wir setzten in denselben eine Schale, welche eine Lösung von Pyrogallussäure und ein Röhrchen mit einer Lösung von Kalihydrat enthielt.

Sodann wurde ein Wasserstoffstrom länger als die von den betreffenden Forschern angegebene Zeit durchgeleitet, und die beiden Zuleitungs- und Abfuhrrohre mit der Lampe verlötet; der Apparat wurde dann geschüttelt, damit die Pyrogallussäure mit Kalihydrat sich verbinde.

Resultat: Reichere Schwärzung der Mischung, Gegenwart von O².

5. Versuch: Ueber den Ersatz der Luft durch Wasserstoff.

Wir leiteten, nicht nur, wie einige Autoren, 20 Minuten lang, sondern sogar während mehr als 2 Stunden, einen Wasserstoffstrom in einen mit einem Gummiverschlusse versehenen Cylinder. Am Verschlusse befanden sich Löcher, durch welche zwei rechtwinkelig gebogene Glasrohre gestellt wurden, von denen das eine, welches dem Eintreten des Gases diente, bis zu der im tiefsten Teile des Cylinders sich befindenden Aetzkalklösung reichte. Das andere diente dem Ausströmen des Gases und reichte kaum an die eine Fläche des Verschlusses.

Auf den Boden des Cylinders setzten wir ein kleines Reagenzglas mit Pyrogallussäure. Der Apparat wurde sodann geschüttelt, damit die Verbindung der beiden Reagentien eintrat.

Resultat: Schnelle Schwärzung des Gemisches, deshalb Vorhandensein von Sauerstoff.

Wegen dieser Resultate, welche deutlich das Vorhandensein von Sauerstoff in den Apparaten beweisen, haben wir den Wasserstoff durch Kohlensäureanhydrit ersetzt, um dem Uebelstande vorzubeugen, mit einem zu flüchtigen Gase zu arbeiten.

6. Versuch: Ueber den Ersatz der Luft durch Kohlensäureanhydrit.

Beim Wiederholen des vorigen Versuches wurde der Wasserstoff durch Kohlensäureanhydrit ersetzt.

Resultat: Schwärzung der Mischung, d. h. Vorhandensein von Sauerstoff.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Typhusbacillen im Brunnenwasser.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz Josef-Universität zu Kolozsvár. Direktor: Dr. Joseph v. Löte, o. ö. Professor.]

Von Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten.

Die Hauptquelle des epidemisch auftretenden Unterleibstypus wurde durch die epidemiologischen Beobachtungen noch vor der Entdeckung des Typhusbacillus mit dem Trinkwasser in Verbindung gebracht. Es ist das Verdienst von Liebermeister, Biermer u. a., durch die Analyse mehrerer Epidemien der lokalistischen Theorie Pettenkofers gegenüber in überzeugendster Weise nachgewiesen zu haben, daß die Hauptquelle der Typhusinfektion das Wasser sei. Auch nach der im Jahre 1901 erschienenen Zusammenstellung Schüders spielte das Wasser bei 77,5 Proz. der Fälle die Hauptrolle. Neben dem Wasser treten die anderen Ursachen bei der Infektion beinahe ganz zurück: die Milch (Schüder, Rossi, Schlegtendal u. a.); die übrigen Nahrungsmittel: Austern, Butter, Käse, Obst, Salat, Kartoffeln, Fleisch (Horcicka, Pfuhl, Heim, Levy und Jacobsthal u. a.); das Eis (Park); die Infektion durch direkten Kontakt (Escherich, Schüder, Liebermeister u. a.) und schließlich der Boden (Schüder, Virchow u. a.).

Die epidemiologischen Beobachtungen haben in ihrem Werte viel gewonnen, seitdem es gelungen ist, den Erreger des Unterleibstypus in Wasser nachzuweisen. Diesbezügliche Beobachtungen finden wir viele in der Literatur. Lösener hat bis zum Jahre 1895 65 solche Fälle zusammengestellt, in welchen angeblich der Nachweis des Typhusbacillus gelungen ist. Es können in vielen dieser Fälle wirkliche Typhusbacillen gewesen sein (Vaillard, Vincent, Géré, Fodor, Loewy, Block, Schild, Lopo de Carvalho), aber wenn wir bedenken, mit welchen Schwierigkeiten der Nachweis, die Identifizierung der Typhusbacillen noch heutzutage verbunden ist, müssen wir Lösener, Fischer und Flatau, Neufeld, Bonhoff beistimmen, daß wir für die Unterscheidung des Typhusbacillus das schärfste und sicherste Reagens in dem Typhusserum resp. in der Pfeifferschen Reaktion und Gruber-Widalschen Agglutination besitzen.

Der erste Fall, in welchem es gelungen ist, den Typhusbacillus aus dem Wasser zu isolieren, stammt von Lösener. Er hat den Eberth'schen Bacillus in dem Berliner Leitungswasser nachgewiesen, bei welchem auch die Pfeiffersche Reaktion eine positive war.

Die zweite Beobachtung stammt von Kübler und Neufeld aus dem Jahre 1898, denen es gelungen ist, den Typhusbacillus aus Brunnenwasser zu isolieren. In diesem Falle ist sowohl die Agglutination als auch die Pfeiffersche Reaktion gelungen. Die Typhusbacillen konnten auch bei einer 4 Wochen später wiederholten Untersuchung nachgewiesen werden, was nach Bonhoff wahrscheinlich nur deshalb gelang, „weil es sich um ein völlig stagnierendes und sehr stark infiziertes Wasser handelte. Ich muß aber auf Bonhoffs Meinung bemerken, daß nach meinen Untersuchungen „Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser“ die Typhusbacillen 499—542 Tage lang im Wasser lebten¹⁾. Dies ist eine Tatsache, welche bei der Beurteilung solcher Fragen auch berücksichtigt werden muß.

Der dritte positive Fall ist die Beobachtung von Hankin aus dem Jahre 1899. Die aus dem Wasser isolierten Bacillen erwiesen sich auch mit Typhusserum als echte Typhusbacillen.

In einem vierten Falle gelang es Genersich bei der Epidemie in Pécs (Ungarn), aus dem Trinkwasser Typhusbacillen zu züchten, welche durch das Serum immunisierter Meerschweinchen bei 1:50 Verdünnung agglutiniert wurden. Pfeiffersche Reaktion hat Genersich nicht vollführt.

Der fünfte Fall ist die Beobachtung von Hanriot aus dem Jahre 1900. Er hat im Wasser der Vanne zu Paris Typhusbacillen nachgewiesen. Von Agglutination oder Pfeiffersche Reaktion ist im Referate des Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 910 keine Erwähnung.

Der sechste Fall stammt von Fischer und Flatau. Sie haben im Jahre 1901 aus einem Brunnen die Typhusbacillen nachgewiesen, welche „durch das Typhusserum in spezifischer Weise beeinflusst wurden“ und „sowohl bei der Gruberschen als auch bei der Pfeifferschen Reaktion das gleiche Verhalten, wie der aus der Milz einer Typhusleiche gezüchtete Typhusbacillus zeigte“.

Der siebente Fall ist die Beobachtung von Tavel, der aus einem Wasserleitungsnetz Typhusbacillen züchtete. Das Typhusserum agglu-

1) Diese Mitteilung erscheint in einer der nächsten Nummern dieses Blattes.

tinierte die betreffende Kultur bei 1:10 000-facher Verdünnung. In diesem neuesten Falle waren die Typhusbacillen beinahe 7 Monate lang „im Wasser lebendig, entwickelungsfähig und infektiös. Umstände — wie Tavel meint — die in diesem speziellen Falle durch die Stagnation im blinden Ende der Leitung gegeben waren.“

Nunmehr gehe ich auf meine eigne Beobachtung über:

Am 22. April 1902 richtete die Direktion einer Fabrikanlage aus Nagyszeben (Ungarn) an das Institut für allgemeine Pathologie die Bitte, das Wasser ihres Brunnens, dessen Benützung der Stadtphysikus verboten hat, auf Typhusbacillen zu untersuchen. Aus diesem Grunde begab ich mich im Auftrage des Herrn Prof. v. Löte am 29. April nach Nagyszeben, nahm Schalen, Nährsubstrate etc. mit, um die Untersuchung möglichst an Ort und Stelle vornehmen zu können.

Bei dieser Gelegenheit sah ich folgendes: Die 11—12 Joch umfassende Fabrikanlage wurde vor 3—4 Jahren erbaut. An dieser Stelle war früher eine feuchte Wiese. Die Anlage ist an manchen Stellen noch jetzt als eine solche zu bezeichnen. Der Pumpbrunnen wurde auch damals aus lose aufeinander gelegten Steinen gebaut. Der Brunnen ist mit Brettern bedeckt, zwischen denen 1 cm große Spalten sich befinden. Beim Pumpen muß man auf den erwähnten Brettern stehen. Es liegt daher auf der Hand, daß der Schmutz bei so einer primitiven Handhabung direkt in den Brunnen gelangt. Die obere Oeffnung der Pumpe war mit Sand gefüllt. Ich kam darauf, daß die Kinder beim Spielen diesen Sand, außerdem noch Stroh etc. in die Pumpe hereinwerfen. Die Umgebung des Brunnens ist weder gepflastert noch geschottert, sondern feucht und mit Holzabfällen bedeckt. Der Brunnen ist vom Stalle 10, von der Dienerwohnung — in welcher die erste Erkrankung vorkam — 20 Schritte entfernt. Der erwähnten Dienerwohnung ist die Senkgrube angebaut. Das in dieser Wohnung wohnende Weib schüttet allen Unrat und Schmutzwasser vor das Haus, also gerade in die nächste Umgebung des Brunnens. Das hier Gesagte habe ich von den Arbeitern erfahren, aber auch ich selbst sah, daß das Weib Schmutzwasser vor das Haus schüttete.

In der Fabrik arbeiteten ungefähr 60—70 Arbeiter. Diese wohnen jedoch nicht auf der Fabrikanlage, sondern in der Stadt, welche ein recht gutes Wasserleitungswasser besitzt. Bei diesen Arbeitern, welche außerhalb der Fabrikanlage wohnten, kam nicht ein einziger Krankheitsfall vor. Die vorgekommenen Erkrankungen beziehen sich nur auf die in der Fabrikanlage Wohnenden. Nach der Aussage der Angestellten war das Wasser dieses Brunnens niemals gut, sie tranken es nur deshalb, weil es kalt war, und weil das Wasser des zweiten Brunnens eisenhaltig und minder kalt ist.

Der erste Typhusfall kam am 25. März 1902 in der schon erwähnten Dienerwohnung vor. Das zuerst erkrankte Kind lag 2 Wochen in der erwähnten Wohnung, und kam erst nachher in das Spital. Nach den freundlichen Angaben des Arztes, Herrn Dr. Heinrich Schuller, kann ich über die vorgekommenen Erkrankungen folgende Daten geben (s. Tabelle p. 571).

In der genannten Wohnung erkrankten also die Mutter (Fall 2) und ihre 4 Kinder (Fall 1, 3, 4 und 5) in kurzem Zeitraum. Am 11. IV. erkrankte der in der Nachbarschaft wohnende Maschinist (Fall 6), dessen Kind (Fall 8). Ob Frau R. (Fall 7) tatsächlich an Typhus erkrankte oder nicht, konnte — obzwar sie 2 Wochen lang fieberte, jedoch nicht

No.	Name, Alter	Beginn	Art der Erkrankung	Dauer	Ausgang
1.	M., Johann, 14 J.	25. III.	Typhus, metast. Absceßbildung	5 Wochen	genesen
2.	M., Juliana, 33 J.	27. III.	Typhus, leicht	5 Wochen	do.
3.	M., Maria, 11 J.	5. IV.	Typhus, leicht	4 Wochen	do.
4.	M., Friedrich, 1 $\frac{1}{2}$ J.	12. IV.	Typhus, durch Meningitis kompl.	3 Wochen	do.
5.	M., Lorenz	12. IV.	Typhus, mittelschwer	5 Wochen	do.
6.	R., Thomas, 34 J.	11. IV.	Typhus, sehr unregelmäßiger Verlauf, nach beinahe vollständiger Entfieberung (ohne Rückgang des Milztumors) Rezidiv, dürfte, nachdem das Herz schon von Anfang an sehr schwach ist, letal endigen.		
7.	Frau R. hat in der	Zeit vom	12. IV. auch gefiebert, ohne im Bett zu liegen.		
8.	R., Bertha, 8 J.	14. IV.	Typhus, leicht	3 Wochen	genesen
9.	Sch., Filip, 34 J.	16. IV.	Typhus, mittelschwer	5 Wochen	do.
10.	K., Mih. 38 J.	23. IV.	Typhus, mittelschwer	3 Wochen	do.
11.	K.s Kind	12. V.	Fieber, Diagnose noch nicht möglich.		

bettlägerig war — nicht ermittelt, werden. Fall 9 und 10 bezieht sich auf die 2 Fabrikaufseher und Fall 11 auf das Kind von einem der letztgenannten.

Da in der Stadt, welche ihr gutes Leitungswasser besitzt, kein einziger Typhusfall vorkam, und da am Fabrikterrain während 3 Wochen 9 Fälle sich ereigneten, sperrte der Stadtphysikus am 17. IV. — 12 Tage vor meiner Ankunft — den Brunnen. Die Schlüssel des verschlossenen Brunnens blieben jedoch beim Aufseher. Während dieser Zeit benutzten sie das Wasser dieses Brunnens, jedoch nicht zum Trinken. 3 Tage vor meiner Ankunft wurde das Wasser des Brunnens zu keinem Zwecke benutzt.

Das Pumpen des Wassers konnte zuerst nur mit Schwierigkeiten durchgeführt werden wegen des in der Pumpe befindlichen Sandes. Die erste Portion des Wassers war mit Sand und Stroh gemischt, gleich danach kam schmutziges, bläulich-schwarzes, nach zersetztem Harn riechendes Wasser während $\frac{1}{4}$ Stunde. Darnach kam etwas reineres, jedoch sah man selbst nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Pumpen im Wasser größere und kleinere Klümpchen und schwimmende Partikelchen. Die Temperatur des Wassers war 10° C. Von 0,1, 0,2, 0,5 und 1,0 ccm des sofort und nach einer halben Stunde aufgefangenen Wassers wurden auf Agar-Agar, dann mit gewöhnlicher und 0,05-proz. Karbolgelatine Aussaaten in je 2 Petrische Schalen gegossen. Es wurden im ganzen in 24 Schalen beiläufig 11 ccm Wasser untersucht. Um auch im Laboratorium mehrere Aussaaten machen zu können, nahm ich in sterilen Flaschen Probenwasser mit. Von diesem Wasser machte ich ebenfalls Aussaaten auf Platten mit gewöhnlicher und Karbolgelatine. Es wurden so im ganzen 20 ccm Wasser verarbeitet.

Auf den nach 30—48 Stunden untersuchten Aussaaten entwickelten sich aus einem Kubikcentimeter der ersten Portion 85 verflüssigende und 2018 nicht verflüssigende, aus der zweiten Portion 25 verflüssigende und 365 nicht verflüssigende Kolonien in der Karbolgelatine. Die gewöhnliche Gelatine verflüssigte sich bei den mit 1,0 und 0,5 ccm gemachten Aussaaten schon nach 48 Stunden, und diese verbreiteten einen unangenehmen, an zersetzten Harn erinnernden Geruch. Aus allen diesen Aussaaten isolierte ich im ganzen 9 typhusverdächtige Kolonien, von denen bei der weiteren Untersuchung 7 weggelassen wurden. Es blieben also 2 verdächtige. Diese zeigten folgende Eigenschaften: kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, welche im hängenden Tropfen

ebensolche Eigenbewegung zeigten, wie die zur Kontrolle dienenden echten Typhusbacillen. Nach Gram wurden sie entfärbt, bei der Cilienfärbung sah man viele ringsumherliegende Cilien, die Gelatine wird nicht verflüssigt, der Kopf des Nagels hat keinen großen Umfang. Milch wird nicht koaguliert, jedoch gedeihen die Bacillen in derselben ganz gut. In Zucker enthaltende Nährböden wird kein Gas gebildet. Auf der Oberfläche der Kartoffel sieht man, daß der aus dem Wasser isolierte Bacillus gerade so gedeiht, wie der auf der anderen Hälfte derselben Kartoffel sich entwickelnde echte Typhusbacillus. In der Lackmusmolke nach Petruschky — wie dies der Dozent und Adjunkt des chemischen Institutes, Herr Dr. Béla Ruzitska, untersuchte — produzieren sie so wenig Säure, daß von der $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge nur ein Tropfen zum Neutralisieren nötig war, während bei Coli 25 Tropfen derselben Lauge gebraucht wurden. In Maassenscher Normallösung gedeihen diese Bacillen nicht. Indol wird nicht gebildet. Mit einem Worte stimmen sowohl die morphologischen als auch die biologischen Eigenschaften mit dem immer zur Kontrolle benutzten echten Typhusbacillus überein, bis auf die Bouillonkultur. Diese ist nämlich gleichmäßig getrübt, aber es bildet sich auf der Oberfläche ein gut entwickeltes Häutchen, was ich bei den echten Typhusbacillen nicht sah.

Zur Erklärung dieses unregelmäßigen Verhaltens in Bouillon kann hier meine bisherige Erfahrung am Platze sein. Ich fand nämlich, daß die echten Typhusbacillen beim Stehen im Leitungs-, sterilem oder destilliertem Wasser auf der Oberfläche der Bouillon Häutchen bilden. Es können also die biologischen Eigenschaften der pathogenen Bakterien im Wasser verändert werden, welche Umstände den Nachweis derselben aus dem Wasser in großem Maße erschweren können.

Aus diesem Grunde begnügte ich mich nicht mit den obigen Proben, sondern ich untersuchte, wie sich die isolierten Bacillen dem Typhuserum gegenüber verhalten.

Die Untersuchung wurde mit zweierlei Typhuserum durchgeführt.

1) Der Dozent und Adjunkt der internen Klinik, Herr Dr. Jancsó, war so freundlich, diese Untersuchung mit menschlichem Serum zu übernehmen. Das Resultat war bei 1:10-, 1:15-, 1:25-, 1:50-, 1:75-, und 1:100-facher Verdünnung, im hängenden Tropfen untersucht, positiv.

2) Nun habe ich mit dem Serum künstlich immunisierter Meer-schweinchen Versuche angestellt, deren Ergebnisse die folgende Tabelle wiedergibt, wo auch die zur Kontrolle dienenden echten Typhus- und Coli-Bacillen in Betracht genommen wurden.

Echte Typhusbacillen		Aus dem Wasser isolierte Bacillen		Colibacillen		Verdünnung
prompte	Agglutination	prompte	Agglutination	prompte	Agglutination	1:10
do.		do.	do.	schwache	Agglutination	1:20
do.		do.	do.	gar keine	Agglutination	1:40
do.		do.	do.	do.		1:80
do.		do.	do.	do.		1:120
do.		do.	do.	do.		1:200
do.		do.	do.	do.		1:400
do.		do.	do.	do.		1:1000
do.		do.	do.	do.		1:2000
do.		do.	do.	do.		1:4000
do.		do.	do.	do.		1:8000

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, agglutinierte das Meer-schweinchenserum die Coli-Bacillen nur bei der Verdünnung 1:10, hingegen die aus dem Brunnenwasser isolierten Bacillen selbst noch bei einer Verdünnung 1:8000. Also verhalten sich die isolierten Bacillen auch in dieser Beziehung gerade so, wie der echte Typhusbacillus, der aus einer Typhusleiche im Dezember 1901 isoliert wurde.

Um die Pfeiffersche Reaktion zu vollführen, immunisierte ich zuerst Meerschweinchen. Die Immunisierung geschah einerseits mit durch Chloroform getöteten und andererseits mit bei 65° C während 15 Minuten gehaltenen Typhusbacillen. Ich versuchte auch — jedoch vorsichtig — mit lebenden Typhusbacillen zu immunisieren. Bei den so angestellten Versuchen bestimmte ich annähernd die Zahl der in das Meerschweinchen geimpften Bacillen durch Aussaaten, welche aus einer bestimmten Menge der eingeimpften Kultur gemacht wurden.

Die Immunisierung nach dieser Methode geschah bei einem 650 g schweren Meerschweinchen, wie folgt:

Am 17. IV. bekam das Tier unter die Haut pro Kilo Körpergewicht	1 356 307	Bacillen
„ 28. IV. „ „ „ in die Bauchhöhle	2 712 614	„
„ 6. V. „ „ „ „ „	34 146 461	„
„ 14. V. „ „ „ „ „	218 240 000	„
„ 23. V. Aderlaß, um 'Serum' erhalten zu können.		

Mit diesem Serum wurde sowohl die Agglutination als auch die Pfeiffersche Reaktion durchgeführt. Diese Reaktion wurde dreimal wiederholt und zwar mit einem Meerschweinchen am 25. V., mit einem anderen am 28. V. und einem dritten am 29. V.

Die Immunisierung ist ganz glatt vor sich gegangen, ich verlor dabei nicht ein einziges Tier.

Von der letzten Dosis, welche die vorbereiteten Tiere in die Bauchhöhle bekamen, gingen die nicht vorbereiteten Tiere (Meerschweinchen und Kaninchen) innerhalb 24 Stunden zu Grunde.

Die Pfeiffersche Reaktion vollführte ich wie folgt: Mit 1 ccm Bouillon vermischte ich 0,02 ccm Serum und zerrieb darin eine 2 mm große Oese der 20-stündigen Agarkultur des aus dem Wasser isolierten Bacillus. Diese wurde dann in die Bauchhöhle des Meerschweinchens gespritzt. Von Zeit zu Zeit entnahm ich aus der Bauchhöhle Serum mittels Glaskapillare. In diesem Serum fand ich schon nach 5 Minuten viele unbewegliche Bacillen, welche sich jedoch gut färben lassen; nach 15 Minuten ist kaum eine Bewegung sichtbar, der größte Teil der eingespritzten Bacillen ist granuliert; nach Verlauf von 30 Minuten zeigen die Bacillen gar keine Eigenbewegung, nehmen die Farbstoffe nicht an, und sind ganz zerfallen. Die Tiere blieben alle am Leben. Injizierte ich aber dieselbe Dosis ohne Typhusserum, oder mit demjenigen eines gesunden Menschen, so ging das Meerschweinchen innerhalb 24 Stunden zu Grunde. Es waren also 0,02 ccm Typhusserum im stande, die Tiere vor der tödlichen Infektion zu retten resp. die Bacillen in der Bauchhöhle der Meerschweinchen während 30 Minuten aufzulösen.

All diese Versuche zeigen deutlich an, daß die aus dem Wasser des Brunnens von Nagyszeben isolierten Bacillen mit den echten Typhusbacillen identisch sind. Dies beweisen sowohl die morphologischen und biologischen Eigenschaften als auch die Gruber-Widalsche und die Pfeiffersche Reaktion.

Aus dem Umstande, daß keine Coli-Bacillen gefunden wurden, könnte man annehmen, daß der Erreger der Krankheit mit dem Harn in das Brunnenwasser gelangte, umso eher — da, wie wir sahen — diese Möglichkeit vorhanden war.

Literatur.

- Biermer, Volkman's Samml. klin. Vortr. Bd. LIII. 1873.
 Block, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. 1898.
 Bonhoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Escherich, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1900.
 Fischer u. Flatau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.
 Fodor, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XI.
 Genersich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII.
 Géré, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891.
 Hankin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVI.
 Hanriot, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.
 Heim, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. V.
 Horcicka, Wien. med. Wochenschr. 1900.
 Kübler u. Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI.
 Lewy u. Jacobsthal, Arch. f. Hyg. Bd. XLIV.
 Liebermeister, Gesammelte Abhandlungen.
 Lopo de Carvalho, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVI.
 Loewy, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XV.
 Lösener, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XI.
 Neufeld, Handb. d. pathog. Mikroorg. Lief. 6—7. 1902.
 Park, Ref. Virchow-Hirschs Jahresbericht. 1901. Bd. II.
 Pfuhl, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVI.
 Rossi, Ref. Centralbl. f. öffentl. Gesundheitspflege. 1898.
 Schild, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI.
 Schlegten dal, Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXXII.
 Schüder, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1901.
 Tavel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Vaillard, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. IX.
 Vincent, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890.
 Virchow, Berl. klin. Wochenschr. 1893.

Nachdruck verboten

Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege.

Von **Paul Steiger**,

Dr. med. vet. in Wattenwil bei Bern (Schweiz).

(Schluß.)

Fall No. 3 Kuh.

Sektionsbefund: Schleimhaut der Cisterne dick, starr, dunkelrot, mit eitrigem Belage. Das Gewebe um die Cisterne stark verhärtet, zum Teil in eine bindegewebige, einige Centimeter dicke Schwarte verwandelt; in derselben sind mehrere nußgroße Höhlen, angefüllt mit dickem, graurotem, stinkendem Eiter.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Galaktophoritis mit Abscessbildung.

Im Strichpräparat des Eiters sind nach Gram färbbare Stäbchen, Kokken, Diplokokken, kurze Ketten und nach Gram nicht färbbare Stäbchen vorhanden.

Aus den Gelatineplatten können nur Kokken und nach Gram nicht färbbare Stäbchen isoliert werden. Die anderen wohl sehr wichtigen Mikroorganismen waren offenbar anaërob.

a) Wachstum der Stäbchen in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, etwas Bodensatz, starke Indolbildung.

Mikroskopisch: 2 μ lange, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum mit flachem, trockenem, lappigem Nagel mit etwas aufgeworfenem Rande. Keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dicker, gelblich bis grauweißer Belag.

Milch: Nach 2 Tagen fest geronnen, stark sauer, Niederschlag zerklüftet.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

b) Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache diffuse Trübung, schleimig-sandiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Nach Gram färbbare, 1 μ messende Kokken.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, zuerst ein flacher Nagel und am 4. Tage beginnt die trichterförmige Verflüssigung.

Kartoffeln: Grauweißer, schwach feuchter Ueberzug mittlerer Dicke.

Milch: Nach 8 Tagen fest geronnen, sauer, Niederschlag homogen.

Bakteriologische Diagnose: Staphylococcus mastitidis.

Die nach Gram färbbaren Stäbchen können in den Platten nicht gezüchtet werden.

Es liegt in diesem indirekt zum Tode führenden Falle eine Mischinfektion mit 3 Komponenten vor, nämlich Coli-Bacillen, Staphylococcus und die nach Gram färbbaren anaeroben Stäbchen, voraussichtlich Bacillus necrophorus.

Fall No. 4 Kuh.

Symptome: Die Kuh kalbte vor 6 Tagen. 3 Tage post partum zeigte das rechte hintere Viertel alle Erscheinungen einer schweren Mastitis. Das Sekret ist graurötlich mit grauen Flocken und verwandelt sich am 6. Tage zu einem gelblich klaren Serum mit weißen Flocken; es reagiert alkalisch. 2 Tage nach der Erkrankung des rechten hinteren Viertels wird das linke vordere Viertel in gleicher Weise ergriffen. Das Allgemeinbefinden des Tieres ist gut. Mikroskopisch findet man im Sekret beider Viertel kurze Stäbchen.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa des rechten hinteren und des linken vorderen Viertels.

Ausgang: Verödung des später ergriffenen Viertels durch Induration. Das zuerst erkrankte Viertel bleibt derber und liefert die Hälfte der früheren Milchmenge.

In den Gelatineplatten wachsen zwei verschiedene Arten Kolonien, wovon die einen rascher wachsen als die anderen und größer werden.

a) Wachstum der größeren Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, grauer Bodensatz.

Mikroskopisch: 2 μ lange, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, grauer, flacher, lappiger Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Dicker, hellbrauner, schwach feuchter Ueberzug.

Milch: Nach 48 Stunden fest geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: Coli-Bacillen.

b) Wachstum der kleineren Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Mäßige Trübung, etwas schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: Schwache, 1 μ große, nach Gram färbbare Kokken.

Gelatinestich: Ziemlich gutes Wachstum, kein Nagel oder nur schwache Andeutung, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Feucht glänzender, orangegelber bis rotbrauner Belag von mittlerer Dicke.

Milch: Nach 7 Tagen geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus fulvus*.

Hier besteht eine Mischinfektion von *Coli*-Bacillen und dem *Galactococcus fulvus*.

Fall No. 5 Kuh.

Symptome: Eine Kuh der Braunviehrasse leidet seit 10 Tagen an schwerer Mastitis des linken hinteren Viertels. Beim heutigen Besuch findet man dasselbe groß-scheibenförmig, hart, wenig schmerzhaft, nicht mehr vermehrt warm. Die anderen Viertel sind klein, normal, ebenso das Sekret. Das Sekret des kranken Viertels ist grau mit Flocken, reagiert alkalisch und enthält kurze Stäbchen in großer Anzahl.

Klinische Diagnose: Schwere Mastitis parenchymatosa des linken hinteren Viertels.

Ausgang: Nach 2 Monaten ist das Viertel klein und hart, liefert etwa 50 ccm normale Milch.

In den Platten wachsen sehr viele weiße, glänzende, große und kleinere, runde, matte Kolonien; erstere wachsen rascher und sind in der Mehrzahl vorhanden, es sind Stäbchen. Die kleineren Kolonien sind Kokken.

a) Wachstum der großen Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Starke diffuse Trübung, schleimiger, dicker Bodensatz, Indolbildung.

Mikroskopisch: 2—3 μ lange, nach Gram nicht färbbare Stäbchen.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, flacher, runder Nagel mit erhabenen Rande, keine Verflüssigung, Gasbildung.

Kartoffeln: Hellbrauner, feuchter, dicker Ueberzug.

Milch: Nach 2 Tagen geronnen, sauer, zerklüfteter Niederschlag.

Bakteriologische Diagnose: *Coli*-Bacillen.

b) Wachstum der kleinen Kolonien in Bouillon:

Makroskopisch: Schwache, diffuse Trübung, schleimiger Bodensatz.

Mikroskopisch: 1 μ messende, nach Gram färbbare Kokken.

Gelatinestich: Gutes Wachstum, von der Oberfläche aus trichterförmige Verflüssigung.

Kartoffeln: Grauweißer, schwach feuchter Belag von mittlerer Dicke.

Milch: Nach 7 Tagen geronnen, sauer.

Bakteriologische Diagnose: *Staphylococcus mastitidis*.

2 Komponenten, der *Colibacillus* und der *Staphylococcus*, bilden hier die Mischinfektion.

Fall No. 6 Kuh.

Symptome: Die Kuh steht einige Tage vor dem Kalben; das rechte vordere Viertel ist stark vergrößert, stellenweise verhärtet, schmerzhaft, die Haut etwas gerötet. die Menge des Sekrets beträgt ca. 300,0 g; es besteht zur Hälfte aus einem trüben, rötlichen Serum, zur anderen Hälfte aus einem großflockigen, grauen Niederschlage. Mikroskopisch findet man sehr viele Eiterkörperchen und eine Unmasse von nach Gram färbbaren, 1 μ dicken, 2—4 μ langen Stäbchen.

Klinische Diagnose: Galaktophoritis durch Fremdkörper.

Ausgang: Notschlachtung einige Tage nach dem Kalben.

In den Gelatineplatten wachsen 10 schmutzig weiße, glänzende, runde Kolonien; von den vielen Stäbchen geht kein Wachstum auf; die Kolonien bestehen aus Kokken.

Wachstum der Kokken in Bouillon:

Makroskopisch: Mäßige Trübung der Flüssigkeit, dicker, grauer Bodensatz.

Mikroskopisch: Kokken in Haufen und einzeln, 1 μ groß, nach Gram färbbar.

Gelatinestich: Gutes Wachstum mit einem flachen, weißen, runden Nagel, keine Verflüssigung.

Kartoffeln: Grauweißer, schwach feuchter Ueberzug von ziemlicher Dicke.

Milch: Bekommt nach 14 Tagen eine klümperige Beschaffenheit und wird sauer, ohne zu gerinnen. Erst nach 6 Wochen ist eine weiche, homogene Masse entstanden.

Bakteriologische Diagnose: *Galactococcus albus*.

Es liegt hier also eine Mischinfektion eines nach Gram färbbaren Stäbchens und des *Galactococcus albus* vor. Es ist anzunehmen, daß das Stäbchen die Hauptrolle bei der Mastitis spielte, erstens weil es in ungeheurer Anzahl sich im Sekret vorfand und weil die Galaktokokken im allgemeinen gutartiger Natur sind und nie so schwere Veränderungen hervorrufen. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist das Stäbchen der anaerobe *Bacillus necrophorus*.

Zusammenstellung der bakteriologischen Befunde bei den Mischinfektionen.

No.	Staph. mast.	Strept. mast. spor.	Colibacillen	Galactococcus			Bac. necrophorus
				fulvus	albus	versicolor	
1		+					
2	+			+			
3	+		+				+
4			+	+			
5	+		+				
6					+		+

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß als Komponenten bei den Mischinfektionen der *Staphylococcus mastitidis* und der *Colibacillus* am häufigsten auftraten. H. Guillebeau hat diese Beobachtung ebenfalls gemacht. Das nach Gram färbbare Stäbchen, welches ich mir *Bacillus necrophorus* zu nennen erlaubt habe, findet sich in einem zur Sektion gebrachten Euter und in dem Sekret zweier an Fremdkörpergalaktophoritis leidender Viertel. Der eine dieser letzteren Fälle endete mit Notschlachtung der Kuh, der andere mit Atrophie und Absceßbildung im Viertel.

Daß die Mischinfektionen die Prognose bedeutend verschlechtern, sehen wir an den ungünstigen Ausgängen dieser 6 Euterentzündungen.

Zusammenstellung der Euterentzündungen und ihrer Ausgänge mit Berücksichtigung der Infektionserreger.

A. *Staphylococcus mastitidis*.

Diagnose:	Ausgang:
I. Ziege, Mast. parenchym. simplex des rechten Viertels	Abheilung in 3 Tagen
II. Kuh, Mast. parenchym. simplex des rechten hinteren Viertels	Abheilung in 2 Tagen
III. Kuh, chronisch eitrige Galaktophoritis (Galt)	Es liegt nur der Sektionsbefund vor

Diagnose:

- IV. Kuh, Mast. parenchym. simplex des linken hinteren Viertels
 V. Kuh, Mast. parenchym. simplex des linken hinteren Viertels
 VI. Kuh, mittelschwere Mast. parenchym. des rechten hinteren Viertels

Ausgang:

- In Euterkatarrh, dann Abheilung nach 4 Wochen
 Abheilung in 3 Tagen
 Bedeutende Besserung eingetreten; steht noch in Behandlung

B. Galaktokokken.

Diagnose:

- I. Kuh, Mast. parenchym. simplex des rechten vorderen Viertels
 II. Kuh, Mast. parenchym. simplex des linken vorderen Viertels
 III. Kuh, Mast. parenchym. simplex des rechten vorderen Viertels
 IV. Kuh, Mast. parenchym. simplex des rechten hinteren Viertels
 V. Kuh, Galaktophoritis (Euterkatarrh) an allen Vierteln
 VI. Rind, Mast. parenchym. mit starkem Hautödem
 VII. Kuh, Mast. parenchym. simplex beider vorderen Viertel
 VIII. Kuh, milde Form der akuten Galaktophoritis (Euterkatarrh)
 IX. Kuh, desgl.
 X. Kuh, desgl.

Ausgang:

- Heilung in wenig Tagen
 desgl.
 desgl.
 desgl.
 Heilung in 14 Tagen
 Vollständige Resolution nach dem Kalben
 Abheilung nach 2 Tagen
 Abheilung in 10 Tagen
 unbekannt
 Abheilung in 3 Wochen

C. Streptokokken.

Diagnose:

- I. u. II. Kuh, Galaktophoritis acuta enzootica (gelber Galt)
 III. Kuh, Galaktophoritis chronica (sporad. Galt) im Beginn
 IV. Kuh, chronische Galaktophoritis (sporad. Galt) beider hinteren Viertel
 V. Kuh, desgl.
 VI. Kuh, chronische Galaktophoritis (sporad. Galt) des linken hinteren Viertels
 VII. Kuh, chronische Galaktophoritis (sporad. Galt) des linken vorderen Viertels
 VIII. Kuh, Galaktophoritis chronica aller Viertel
 IX. Kuh, desgl.
 X. Kuh, Galaktophoritis chronica des rechten vorderen Viertels

Ausgang:

- Mästung, Schlachtung
 Nach 8 Wochen keine Besserung
 Atrophie, Sistierung der Sekretion, Schlachtung des Tieres
 unbekannt
 Sektionsbefund
 Heilung nach 5 Wochen
 Schlachtung
 desgl.
 Mästung und Schlachtung

D. Colibacillen.

Diagnose:

- I. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des rechten hinteren Viertels und sekundär Kreuzschwäche und Magendarmkatarrh
 II. Kuh, Mastitis necrotica mit Metastasen nach Leber und Lunge
 III. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des linken hinteren Viertels und sekundär leichter Magendarmkatarrh
 IV. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des rechten hinteren Viertels
 V. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des linken hinteren Viertels
 VI. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des rechten hinteren Viertels
 VII. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des rechten hinteren und vorderen Viertels

Ausgang:

- Atrophie und Induration
 Es liegt nur der Sektionsbefund vor
 Herdförmige Nekrose, Verödung des Viertels
 Viertel wird stets größer, derb, hart, Sekret graugelb, stark stinkend
 Resolution nach 10 Tagen
 Atrophie und Induration
 langsame Abheilung, Milch wird normal, doch um $\frac{1}{2}$ vermindert

Diagnose:

- VIII. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des rechten vorderen Viertels
 IX. Kuh, mittelschwere Mastitis parenchymatosa des linken hinteren Viertels
 X. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des linken hinteren Viertels
 XI. Kuh, rechten vorderen Viertels
 XII. Kuh, schwere Mastitis parenchym. des linken hinteren und des rechten vorderen Viertels
 XIII. Kuh. Mastitis necrotica aller Viertel
 XIV. Kuh, schwere Mastitis parenchym. und sekundär Kreuzschwäche und Magendarmkatarrh

Ausgang:

- Abheilung nach 3 Wochen
 Abheilung, Wiederkehr der Sekretion
 Bildung nekrotischer Herde, Verödung des Viertels
 Induration
 Bildung nekrotischer Herde im rechten vorderen Viertel
 Es liegt nur der Sektionsbefund vor
 Abheilung nach 14 Tagen, Milch auf $\frac{1}{4}$ zurückgegangen

Diagnose:

- I. Kuh, chronische Fremdkörpergalaktophoritis des rechten vorderen Viertels
 II. Kuh, chronische Fremdkörpergalaktophoritis des linken hinteren Viertels
 III. Kuh. Galaktophoritis mit Absceßbildung
 IV. Kuh, schwere Mastitis parenchymat. des rechten hinteren Viertels
 V. Kuh, schwere Mastitis parenchymat. des linken hinteren Viertels
 VI. Kuh, Galaktophoritis durch Fremdkörper

E. Mischinfektionen.

Komponenten der Mischinfektion:

- Streptococcus mast. sporad.
 Staphylococcus mast.
 Staphyloc. mast., Galactococcus fulvus
 Colibacillen, Bac. necrophorus, Staphyloc. mast.
 Colibacillen, Galactococcus fulvus
 Colibacillen, Staphyloc. mast.
 Bac. necrophorus, Galactococcus albus

Ausgang:

- Induration
 Atrophie m. Absceßbildung
 Es liegt nur der Sektionsbefund vor
 Induration
 Induration
 Schlachtung

Diese Tabelle ergibt, daß in der Regel die Mastitiden, welche durch Einzelinfektion eines Staphylococcus oder eines Galactococcus entstanden sind, in kurzer Zeit in Resolution übergehen, daß hingegen Euterentzündungen, hervorgerufen durch Streptokokken, Coli-Bacillen oder durch Mischinfektion verschiedener Mastitisbakterien, häufig ein ungünstiges Ende nehmen, indem sie ihren Ausgang entweder in Atrophie oder Nekrose des Drüsengewebes mit Verödung des Viertels finden.

Die Kokken in den Vormägen des Rindes.

Ogleich durch die Arbeiten von Frank (10), Kitt (27, 28), Nocard und Mollereau (42, 43), Nocard (41), Bang (1), Hess und Borgeand (20), Guillebeau (15), Guillebeau und Hess (17, 18), Lucet (36, 37), Zschokke (48, 49), Jensen (25), Streit (47), Gröning (14) u. a. mit Sicherheit festgestellt ist, daß die Infektion der Milchdrüse mit Mikroorganismen das entscheidende Moment in der Aetiologie der Euterentzündung ist, so ist doch die Infektionspforte, nämlich der Vorgang des Eindringens der Bakterien, ihr Weg und ihre Transportmittel, ein heute noch viel umstrittener Punkt. Die bis vor kurzer Zeit noch als genügende Ursachen der Euterentzündungen angeführten Momente (Strebel [46]), wie Verletzungen, Schrunden, Benutzung von Melkröhrchen, Stauung der Milch, unvollständiges Ausmelken, Erkältung, besondere Witterungsverhältnisse, vorangehende Krankheiten anderer Art, die venöse Stauung, welche am Ende der Trächtigkeit im Gebiete der Milchdrüsen vorhanden ist, das herannahende

Werfen mit seiner Steigerung des Stoffwechsels in der Drüse, die hochgradige Sekretion unmittelbar nach dem Werfen, die Stallfütterung, können heute nur noch als prädisponierende Faktoren betrachtet werden, indem sie die Ansiedlung der Bakterien im Euter ermöglichen.

3 Eingangspforten sind von verschiedenen Schriftstellern besonders genannt worden, nämlich die Einwanderung von dem Zitzenkanal, diejenige von einer Wunde und die von dem Blute aus. Die erste nennt man die galaktogene, die zweite die lymphogene, die dritte die hämatogene Infektion.

1) Die galaktogene Infektion.

Frank (10) stellte im Jahre 1876 zum ersten Male die Infektionstheorie der Mastitis parenchymatosa, gegründet auf früher geschilderte Versuche, auf. Die Milch ist nach ihm gewissermaßen die Heerstraße, auf welcher der eingedrungene Infektionsstoff das Eutergewebe erreicht. Die Infektion erfährt eine Begünstigung durch das Hängenbleiben von Milchtröpfchen an der Außenmündung des Strichkanales, in welchem sich die Mikroorganismen rasch vermehren und durch den Strichkanal hinaufwandern. Franks Ansicht über die galaktogene Infektion schließt sich auch Schlösser (45) an, glaubt jedoch noch Wunden und Schrunden der Zitzen als Invasionspforten der Spaltpilze bezeichnen zu müssen. Erfolgreiche Injektionen machten ferner Nocard und Mollereau (43), Kitt (27, 28), Nocard (41), Bang (1), Guillebeau (15), Guillebeau und Hess (17, 18), Jensen (25) und Zschokke (48).

Kitt (27) hat nicht nur mittelst direkter Einspritzung von Kulturen in die Cisterne eine Mastitis erzielt, sondern auch den Beweis zu erbringen versucht, daß schon das Einreiben von Kartoffel- und Gelatinekulturen an die Zitzenöffnung eine Mastitis zu erzeugen im Stande sei. Durch dieses Verfahren hat er mehrere positive Resultate erhalten.

Nach einer großen Anzahl von Injektionsversuchen in die Zitze haben Guillebeau und Hess (17) die eben erwähnten Versuche von Kitt einer Nachprüfung unterworfen. Zu diesem Zwecke wurden 5 verschiedene frische Kulturen des *Streptococcus mastitidis sporadicus* 5 Kühen an die Zitzenmündung entweder angepinselt oder mit Watte angerieben. Das Resultat dieser Versuche war ein absolut negatives und widerspricht den Ergebnissen, die Kitt früher gefunden hatte. Doch waren die Versuche nicht ganz ähnlich, da die einen bewegliche, die anderen unbewegliche Bakterien verwendeten. Es schien daher eine Wiederholung der Versuche auch mit beweglichen Bakterien am Platze.

Eigene Versuche.

Kuh No. 1.

An allen 4 Zitzen wurden Bouillonkulturen mit *Coli-Bacillen* angerieben. In den folgenden Tagen trat keine Veränderung an der Milchdrüse ein. Die Milch enthielt wie normaler Weise immer Bakterien, aber es fehlten die Leukocyten durchaus. 2 oder 3 kleine Flocken bestanden ausschließlich aus Fett und Kasein.

Es wurde nun am folgenden Tage mit einer dünnen, stumpfen Glasröhre 1 cm Bouillonkultur in die Cisterne einer Zitze eingespritzt, worauf nach 18 Stunden am Viertel Schwellung, Zunahme der Konsistenz, Röte und Schmerzhaftigkeit sich bemerkbar machten. Das Sekret bestand aus einer kleinen Menge trüben Serums, in dem zahlreiche kleine, weißliche Flocken schwammen; letztere bestanden mikroskopisch aus

Eiterkörperchen. Nach der Tötung der Kuh ergab die mikroskopische Untersuchung der Drüse weite Alveolen, gefüllt mit zahlreichen Leukocyten, die Drüseneptthelien hell, durchsichtig, zwischen denselben zahlreiche Leukocyten, die von der Scheidewand nach dem Lumen wanderten.

Kuh No. 2.

Derselbe Versuch. Die Drüse und das Sekret änderten sich nicht.

Kuh No. 3.

Vor der Impfung war das Sekret an allen 4 Strichen normal. Bei der Kuh No. 3 werden 2 Striche mit Bouillonkulturen von Coli-Bacillen, 1 Strich mit Bouillonkulturen von contagiöser Galaktophoritis und 1 Strich mit Milch von einer nicht contagiösen Galaktophoritis eingerieben. Keines der Viertel erkrankte, überall blieb die Milch wie vor dem Versuche.

Nach 2 Tagen wurden die Infektionsversuche noch einmal wiederholt und das Ergebnis war wiederum ein negatives. Ferner wurden Kulturen auf Gras geschüttet und die Kuh veranlaßt, dieses Futter aufzunehmen, was sie indessen ungerne tat; auch dieser Versuch blieb ergebnislos.

Kuh No. 4.

Zur Bestimmung der Temperatur des Strichkanales, welche 26° beträgt, wurde ein Thermometer von 4 mm Durchmesser in dem Strichkanale des linken Bauchviertels 1 cm tief eingeführt.

2 Tage nachher wurden alle 4 Striche mit einer Bouillonkultur des Colibacillus oberflächlich mit einem Wattebäuschchen eingerieben. Das sondierte linke Bauchviertel zeigte nach 24 Stunden Zunahme der Konsistenz, Röte der Haut; das Sekret war stark gelblich gefärbt und enthielt zahlreiche mit Fetttropfen beladene Leukocyten, die mit der Rahmschicht in die Höhe stiegen. Nach 24 Stunden war außerdem in der Milch ein Bodensatz aus Leukocytenflocken zugegen. Es wurde das Experiment in der Weise wiederholt, daß beide Schenkelstriche nach sorgfältiger Desinfektion mit einem ebenfalls sorgfältig desinfizierten Glasstabe von 4 mm Durchmesser sondiert wurden. 12 Stunden nachher wurden nur an einem der sondierten Striche und an dem nicht sondierten rechten Bauchviertel Bouillonkulturen von Coli mit einem Wattebäuschchen angerieben. Keines der 3 Viertel erkrankte, so daß man mit Sicherheit die Mastitis des ersten Viertels auf eine Infektion infolge unvorsichtigen Sondierens mit dem Thermometer zurückführen kann. Die Milch des kranken Viertels enthielt vorzugsweise Coli-Bacillen von verhältnismäßig geringer Virulenz, denn die Entzündung des Euters war eine durchaus milde.

Meine Versuche sind somit ausgefallen wie diejenigen von Hess und Guillebeau. Es gelang nicht, durch einfache Berührung der Zitzenmündung mit virulenten Bakterien eine Mastitis zu erzeugen und die oben erwähnte von Kitt aufgestellte Theorie der ascendierenden Infektion konnte nicht bestätigt werden.

2) Die lymphogene Infektion.

Der Anschauung von Nélaton (40), König (31) und Billroth (3), welche bei der Mastitis des Menschen als Infektionspforte die Schrunken der Zitze betrachten, von wo aus der Infektionsstoff durch die Lymphgefäße in die Milchdrüse gelangt, schließt sich Kitt (27) an, indem er das entzündliche infektiöse Oedem (traumatisches Oedem) zu den lymphogenen Entzündungsprozessen im Euter rechnet. Die theoretische Richtigkeit dieser Voraussetzungen ist zuzugeben, aber es muß hervorgehoben werden, daß in der Praxis Fälle dieser Art recht selten sind.

3) Die hämatogene Infektion.

Kitt (27) betont, daß nach seiner Ansicht die hämatogenen Mastitiden stets totale sein müßten, wobei er natürlich die Voraussetzung macht, daß das Blut sehr viele pathogene Bakterien in der Drüse abgelagere; indessen wird man auch die Möglichkeit, daß nur ein einzelner pathogener Bacillus in die Milchdrüse gelangt, einräumen müssen.

Guillebeau und Hess (18) versuchten festzustellen, ob die Mastitiden nicht auf metastatischem Wege hervorgerufen werden könnten. Zu diesem Zwecke haben die beiden Forscher aus pathologischem Eutersekret gezüchtete Bakterien in die Conjunctiva, in die Trachea, in das Cavum thoracis, in das Cavum abdominale, in den Pansen, in den Mastdarm, in die Scheide, in die Gelenkkapseln und in das subkutane Bindegewebe gespritzt. Es führten 9 Versuche mit Bacillus Guillebeau a zu einer Mastitis oder zu einem Euterkatarrh, so daß Metastasen nach dem Euter vom Geschlechts- und Verdauungsapparat, von den Gelenkhöhlen und vom Unterhautzellgewebe von ihnen positiv nachgewiesen sind.

Auf Grund dieser Versuche wird man der Angabe von Kotelmann (32), daß infolge von Abortus häufig über Nacht Euterentzündung bei Kühen entstehe, die sich bald nur auf 1, bald auf 2 Viertel, am häufigsten auf das ganze Euter erstrecke, beipflichten können. Nach Kotelmann muß diese Entzündung als metastatische aufgefaßt werden.

Erwähnenswert ist ferner der von Frank (11) hervorgehobene Umstand, daß bei gewissen Krankheiten, wie beim Ausfaulen der Nachgeburt, bei Metritis, gerne Euterentzündungen entstehen.

Auf hämatogener Infektion beruhen möglicherweise die Euterentzündung bei der Maul- und Klauenseuche und die infektiöse Agalaktie der Ziege, welche nach Hess und Guillebeau (21) als eine Allgemeininfektion mit sekundären Lokalisationen im Euter, Auge u. s. w. gedeutet werden muß.

Unter gleichen Erscheinungen hat auch der Franzose Bournay (4) die infektiöse Agalaktie bei Schafen und Ziegen beobachtet.

Jensen (25) hält die auf hämatogenem Wege entstandenen Euterentzündungen für viel seltener als die galaktogenen Formen. Die hämatogenen teilt er in 2 Gruppen ein:

1) Die lokalen embolischen Prozesse, wozu unter anderen die vom Autor beobachteten Euternekrosen, die durch den Nekrosebacillus und sekundär nach diphtherischen Prozessen im Verdauungskanal entstehen, gehören.

2) Die diffusen Formen, die auf der Ausscheidung von pathogenen Bakterien in der Milchdrüse beruhen. Im Gegensatz zu Guillebeau (16), der den Uebergang der Mikroorganismen aus dem Blute in die Milch als Regel betrachtet, ist Jensen (26) der Ansicht, daß dieses bei weitem nicht immer der Fall sei.

Wie die Untersuchungen von Streit (47) und Gröning (14) lehren, kommen die Mastitisbakterien im Darmlumen und in der Umgebung der Kühe äußerst zahlreich vor. Streit züchtete aus Kuhkot von 7 verschiedenen gesunden Kühen Coli-Bakterien in großer Anzahl. Während Gröning im ersten Viertel des Dünndarms weder mikroskopisch noch kulturell Streptokokken nachweisen konnte, fand er in den hinteren Abschnitten desselben 2—4-gliedrige Ketten in geringer Anzahl. Im Dickdarm nahm allgemein die Darmflora bedeutend zu und auch die Streptokokken, bis letztere im Mastdarm in kürzeren und

längeren 10—30-gliedrigen Ketten vorkamen. Beide nehmen die hämatogene und galaktogene Invasion der Bakterien an.

Neuerdings gewinnt die Lehre der hämatogenen Infektion eine Stütze durch den Nachweis, daß das Euter konstant eine größere Anzahl von Bakterien beherbergt, die Milch somit nie bakterienfrei ist. Nachdem schon der Amerikaner A. R. Ward und der Schwede Chr. Barthel gezeigt haben, daß in der Tat dieses Organ stets von Mikroorganismen bewohnt ist, hat v. Freudenreich (12) durch sorgfältige Untersuchungen meist soeben geschlachteter Kuheuter den unanfechtbaren Nachweis erbracht, daß die Drüse stets Bakterien enthält.

Von den gewachsenen Kolonien wurden möglichst viele mikroskopiert oder wo dies nicht möglich war, doch so gut wie möglich makroskopisch bestimmt. Der Bakteriengehalt schwankte in ziemlich weiten Grenzen. In einigen Fällen, wo die Kuh ausnahmsweise am Abend vorher geschlachtet wurde, enthielt das Euter sehr viel mehr Bakterien als die frischen Drüsen. Nebst wenigen Bacillen fand der Autor hauptsächlich Kokken, die Gelatine teils verflüssigen, teils nicht verflüssigen.

Die Frage, ob die im Euter gefundenen Bakterien auf eine hämatogene oder galaktogene Infektion zurückzuführen sind, läßt der Autor insoweit offen, indem er nun beide Infektionsarten für möglich hält. Obgleich die meisten Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, aus verschiedenen Gründen zur ascendierenden Infektion neigen, bekennt unser Autor doch, daß die Möglichkeit einer hämatogenen Infektion nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen sei. Wie schon Barthel, so hat auch v. Freudenreich das Vorhandensein morphologisch und kulturell ähnlicher Bakterien bei den Kühen in Niere und Milz nachgewiesen. Da nun diese Organe nur auf hämatogenem Wege infiziert werden können, so steht einer Invasion von Bakterien ins Euter auf diesem Wege ebenfalls kein Hindernis entgegen.

Nachdem Streit und Gröning die Verbreitung der Coli-Bakterien und Streptokokken festgestellt hatten, lag es nahe, auch für Galaktokokken ähnliche Untersuchungen vorzunehmen. Es war dafür nicht der Inhalt des Darmes, sondern der des Pansens und des Psalters des Rindes als Untersuchungsmaterial zu wählen.

v. Freudenreich (12) hatte mehrmals vergebens Kokken im Darminhalte gesucht. Er stellte auf Veranlassung von Gullebeau kurze Zeit nach mir ebenfalls solche Untersuchungen betreffend den Panseninhalt an. In der bereits veröffentlichten Arbeit geht der Autor nicht näher auf die botanischen Merkmale der in großer Menge gefundenen Kokken ein, bemerkt jedoch, daß er Kolonien fand, welche die Gelatine verflüssigten und solche, die dieselbe nicht verflüssigten.

Im Jahre 1885 machte A. List (35) Untersuchungen über die in und auf dem Körper des gesunden Schafes vorkommenden niederen Pilze. Er spricht seine Verwunderung aus über die kolossale Menge von Spaltpilzen, die im Mageninhalt isoliert, in Klumpen und Ballen von vielen Tausenden vorkommen. Der Bakterienreichtum im Psalter und Labmagen ist bedeutend geringer als im Pansen und in der Haube. Pansen und Psalter enthalten nach List folgende Bakterienarten:

Pansen:	Psalter:
Micrococcus candidus	M. candidus
M. luteus	M. luteus
M. ?	—
Sarcina ventriculi	Sarcina ventriculi
Bacterium termo	B. termo
B. Lineola	—
B. merismopedioides	B. merismopedioides
—	B. Zürnianum
—	B. ?
Bacillus subtilis	Bacillus subtilis
B. ulna	—
—	B. butyricus

Um aus diesem enormen Bakteriengemisch Reinkulturen zu erhalten, bedurfte es zahlreicher Plattenkulturversuche und Ueberimpfungen.

Spezielle Mitteilungen über Mikroorganismen in den Mägen des Rindes konnte ich in der mir zugänglichen Literatur nicht finden. Daher entschloß ich mich, diesen Inhalt zum Gegenstand meiner Untersuchungen zu machen. Seither ist auch die Arbeit von v. Freudenreich über diesen Gegenstand erschienen.

Untersuchung des Panseninhaltes.

Nach der Exenteration der Eingeweide eines gesunden Tieres wurden Pansen und Psalter geöffnet und eine kleine Menge des Inhaltes in ein steriles Probierröhrchen gebracht. Das Material wurde entweder in der Tiefe der Mägen oder näher an ihren Wandungen entnommen; in der Bakterienflora war jedoch kein Unterschied wahrzunehmen. Hiervon wurden sofort Plattenkulturen in Gelatine mit 4—5-facher Verdünnung gemacht und diese täglich auf ihr Kolonienwachstum beobachtet. Gleichzeitig versäumte ich es nicht, regelmäßig mikroskopische Präparate anzufertigen und nach Bakterien zu suchen. Von der kolossalen Menge Bakterien der verschiedensten Formen in dem Inhalt der Vormägen kann man sich erst einen Begriff machen, wenn man selbst mikroskopische Präparate gesehen hat. Mikroskopisch habe ich im Pansen gefunden:

- | | | |
|--|--|--|
| 1) Streptokokken | { feine
mittelgroße } | nach Gram färbbar |
| 2) Kokken | { feine, oft in kurzen Ketten
mittelgroße (1 μ)
große (größer als 1 μ)
schr große (Größe der Hefezellen), | nach Gram färbbar
nach Gram nicht färbbar |
| 3) Stäbchen | { feine, 3 μ lang, nach Gram färbbar
1 μ dicke, 2 μ lange, nach Gram nicht färbbar
große, 6—8 und mehr μ lang, | nach Gram färbbar |
| 4) Sarcinen in ihren schönsten Formen. | | |

Ebenso mannigfaltig war die Bakterienflora im Psalter.

Daß natürlich in den Gelatineplatten die verschiedenartigsten Kolonien gediehen, ist selbstverständlich.

Da ich es bei meinen Untersuchungen hauptsächlich auf die Kokken abgesehen hatte, so war mein erstes Bestreben, in diesem Chaos schon bei makroskopischer Betrachtung der Kolonie ungefähr zu wissen, ob sie aus Kokken bestände oder nicht. Häufig geschah es, daß ich eine Menge Kolonien in Bouillon übertrug, die aus Stäbchen bestanden; der Zufall wollte es z. B., daß ich das erste Mal aus dem Pansen keinen, aus dem Psalter einen einzigen Coccus isolieren konnte; anders war das Ergebnis bei den folgenden Versuchen.

Kulturversuche.
I. Gelatine verflüssigende Kokken.
a) aus dem Pansen.
Wachstum in:

No.	Bouillon	Gelatine	Milch	Kartoffeln	Bouillon mit					
					1-proz. Milchzucker			1-proz. Traubenzucker		
					Kahmhaut	Gas	Reaktion	Kahmhaut	Gas	Reaktion
1	Schwache diffuse Trübung, schleimiger Bodensatz, Kokken von 1 μ Größe, nach Gram färbbar	Im Stich geringes Wachstum, gut an der Oberfläche; am 2. Tage beginnt die sackförmige Verflüssigung	Am 7. Tage zu einer dicken, festen Masse geronnen, stark sauer. Kokken, Diplokokken, häufig Ketten von 4—10 Gliedern	Grauweißer, feuchter, mäßig dicker Ueberzug	+	+	s	+	+	s
2	wie 1	Nach 2 Tagen gutes Wachstum, gezackter Nagel, am 3. Tage beginnt die sackförmige Verflüssigung, Gelatine wird schleimig, fadenziehend	Nach 8 Tagen fest geronnen, stark sauer, sonst wie 1	wie 1	—	+	s	—	+	s
3	wie 1	wie 2	Nach 9 Tagen geronnen, nebst Kokken sind häufig 4—10-gliedrige Ketten, auch solche bis zu 30 Gliedern	wie 1	—	+	s	+	+	s
4	wie 1	wie 2	Am 11. Tage geronnen, sonst wie 1, auch Doppelketten v. 4—6 Gliedern	wie 1	—	+	s	+	+	s
5	wie 1	wie 2	Am 6. Tage geronnen, sehr stark sauer, sonst wie 4	wie 1	—	+	s	+	+	s
6	wie 1	wie 2	wie 2	wie 1	—	+	s	+	+	s
7	wie 1	wie 2	Nach 12 Tagen geronnen, sonst wie 2	wie 1	+	+	s	+	+	s
8	wie 1	wie 2	wie 7	wie 1	—	+	s	—	+	s
9	wie 1	wie 2	Nach 13 Tagen geronnen, sonst wie 2	wie 1	—	+	s	+	+	s

b) aus dem Psalter.

No.	Bouillon	Gelatine	Milch	Kartoffeln	Bouillon mit					
					1-proz. Milchzucker			1-proz. Traubenzucker		
					Kahnhaut	Gas	Reaktion	Kahnhaut	Gas	Reaktion
10	wie 1	Gutes Wachstum, seitwärts vom Stich feine weiße Kolonien, anfangs ein breiter Nagel, nach 14 Tagen beginnt die Verflüssigung sackförmig	In 4 Tagen zu einer festen Masse geronnen, Ausscheid. grau-trüber Molke, meistens Ketten bis zu 10 Gliedern, selten längere, Korn kräftig	Grauweißer, mehr trocken-körniger Ueberzug von mittlerer Dicke	—	+	s	—	+	s
11	wie 1	Verflüssig. beginnt am 2. Tage, sonst wie 10	Nach 6 Tagen geronnen, sonst wie 10, Korn kräftig, rund oder oblong	wie 10, nur schwächer	—	+	s	+	+	s
12	Bouillon bleibt klar, sehr starker, gelber Bodensatz, der als ganzer Klumpen beim Schüttern aufsteigt; nach Gram färbare $1\frac{1}{2}$ μ große Kokken	In der Tiefe des Stiches ist wenig Wachstum, gut an der Oberfläche, rasche Verflüssigung, an deren Grunde ein gelber Niederschlag u. an der Oberfläche ein gelbes zähes Häutchen	Nach 6 Tagen ist die Milch zu einer klumpigen Masse geronnen, bleibt jedoch stets amphoter; Kokken in Haufen, selten einzeln oder zu 4; Größe $1\frac{1}{2}$ μ	Orangegelber, glänzender, dicker Ueberzug	+	+	a	+	+	s
13	Bouillon schwach getrübt, starker, sandiger Bodensatz	Gutes Wachstum, anfangs flacher Nagel, dann cylinderförmige Verflüssigung	Am 4. Tage geronnen, Ausscheidung grau-trüber, saurer Molke; viel Diplokokken, Ketten bis zu 6 Gliedern, oft Doppelketten bis zu 6 Gliedern	Brauner, dünner, feuchter Ueberzug, Kartoffel braun verfärbt	+	—	s	+	+	s
14	wie 1	wie 13	wie 13	wie 13	—	+	s	+	+	s
15	wie 1	Gutes Wachstum, flacher, breiter Nagel, nach 14 Tagen beginnt Verflüssigung der Gelatine	Nicht geronnen, hellbraune Verfärbung. amphoter. Kokken in unregelmäßigen Haufen, Tetraden u. bis 6-gliedrige Doppelketten	Hellbrauner bis hellgelber, schwach feuchter, körniger, dicker Belag	—	—	n	—	—	n

II. Gelatine nicht verflüssigende Kokken.

a) aus dem Pansen.

No.	Bouillon	Gelatine	Milch	Kartoffeln	Bouillon mit					
					1-proz. Milchzucker			1-proz. Traubenzucker		
					Kahnhaut	Gas	Reaktion	Kahnhaut	Gas	Reaktion
16	wie 1	Gutes Wachstum im Stich u. an der Oberfläche; dicker, glänzender Nagel, keine Verflüssigung	Am 14. Tage fest geronnen, über dem Niederschlage eine trübe Molke, stark sauer, Kokken, Diplokokken, häufig bis 10-gliedrige, selten 40-gliedrige Ketten	Grauweißer bis hellbrauner, trocken. Ueberzug mittlerer Dicke	+	+	s	+	+	s
17	wie 1	wie 16	wie 16	wie 16, nur etwas heller	+	+	s	+	+	s
18	wie 1	wie 16	Am 10. Tage geronnen, sonst wie 16	wie 17	+	+	s	+	+	s
19	wie 1	wie 16	Nach 6 Tagen geronnen, sonst wie 16	Dünner, weißer, trockener Belag	+	+	s	—	+	s
20	wie 1	wie 16	Am 8. Tage geronnen, sonst wie 16	Dünner, grauweißer, trockener Belag	+	+	s	—	+	s
21	wie 1	Nach 5 Tagen gutes Wachstum, flacher gezackter Nagel	Nach 4 Tagen geronnen, sauer, meist 1,5 μ große Kokken, selten Ketten von 3—5 Gliedern	Grauweißer, feuchter Ueberzug	+	+	s	—	+	s
22	wie 1	Gutes Wachstum als wellig gerandeter Stich, kein Nagel, keine Verflüssigung	wie 18	Gelblicher, glänzender, dünner Belag	—	—	s	—	—	s
23	Bouillon klar, Bodensatz schleimig	Gutes Wachstum, dicker, erhabener, zäher Nagel, keine Verflüssigung	Nach 15 Tagen geronnen, sonst wie 16	wie 16	+	+	s	+	+	s
24	Bouillon leicht getrübt, Bodensatz sandig	wie 22	Nach 6 Tagen eine feste homogene Masse bildend, sonst wie 16	Weißer, trockener, dünner Belag	+	+	s	+	+	s

No.	Bouillon	Gelatine	Milch	Kartoffeln	Bouillon mit 1-proz. Milchzucker		1-proz. Traubenzucker		
					Kahnhaut	Gas	Kahnhaut	Gas	Reaktion
25	Bouillon klar, Bodensatz schwach schleimig, Kokken von 0,5 µ Größe	Schwach. Wachstum, kein Nagel, keine Verflüssigung	Gerinnung nach 2 Tagen, sauer, Kokken und 4—6 gliedrige Ketten	Weißgelblicher, schwach feuchter Ueberzug mittlerer Dicke	—	—	s	—	s
26	wie 1	Breiter, lappiger Nagel, sonst wie 16	wie 16	Grauer, dicker trockener Belag	+	+	s	+	s
27	wie 1	wie 26	wie 26	wie 26	+	+	s	+	s
28	Bouillon klar, Bodensatz sandig, Kokken u. viele Ketten, deren einzelne Körner sich oft schlecht färben	Geringes Wachstum, weiße, runde Kolon., kein Nagel, keine Verflüssigung	Milch gerinnt nicht, amphoter, kurze Ketten v. 3—6 Gliedern	Nach 3 Wochen ein graues, dünnes Häutchen	—	—	a	—	a
b) aus dem Psalter.									
29	wie 1	Nach 14 Tagen schwach. Wachstum, Stich grauweiß, gefranst, kein Nagel	Gerinnung bleibt nach 14 Tagen aus, schwach sauer, Kokken, Tetraden, 3—8 gliedrige Ketten	Dünnere, grauweißer Ueberzug	—	—	n	—	n
30	wie 1	Gutes Wachstum, flacher, runder, glänzender Nagel	Nach 8 Tagen geronnen, sauer, meistens Kokken, 3—4 gliedrige Ketten	Weißer, mäßig dicker, trockener Belag	+	+	s	+	s
31	Bouillon schwach getrübt, starker sandiger Bodensatz	Gutes Wachstum, großer, flacher, welligerandeter Nagel	Nicht geronnen, amphoter, Kokken	Graugelber bis hellbrauner, feuchter, dicker Belag	—	—	n	—	n

Nachdem die Kolonien in Pferdefleischbouillon übertragen waren, blieb diese 1—2 Tage im Brutzimmer bei 37° C stehen; in dieser Zeit entwickelten sich diese Bakterien aufs schönste. Nach der Stärke der Trübung der Bouillon und nach der Raschheit des Wachstums konnte jeweils schon makroskopisch mit ziemlicher Sicherheit die kokkenhaltige von der stäbchenhaltigen Bouillon unterschieden werden. Immer wurde jedoch vom Bodensatz ein mikroskopisches Thionin- und Gram-Präparat angefertigt zur sicheren Bestimmung der Bakterienform. Auf diese Weise gelang es mir, bei 3 Versuchen 22 Stämme von Kokken aus dem Pansen, 9 aus dem Psalter in Reinkultur zu erhalten, die ich hinsichtlich ihres kulturellen, morphologischen und physiologischen Verhaltens in flüssigen und auf festen Nährmedien beobachtet habe.

Wie die Aufzeichnungen der einzelnen Kulturen zeigen, ist das makroskopische Verhalten der 48-stündigen Bouillonkulturen das gleiche. Stets findet man am Grunde des Reagenzglases einen grauen Bodensatz. Derselbe bildet meistens eine schleimige dichte Masse, die sich beim Schütteln zopfartig erhebt. Selten ist der Bodensatz locker und wirbelt staubförmig auf (13, 24, 28, 31). Schon nach 24 Stunden zeigt die Bouillon eine schwache diffuse Trübung, die nach 48 Stunden stärker ist, um dann ziemlich gleich zu bleiben. Eine Kahlhaut bildete sich nirgends. Klar blieb die Bouillon bei 12, 23, 25, 28.

Bei der Prüfung der Reaktion der Bouillonkulturen mit Lackmuspapier waren alle Kulturen stark alkalisch; zum Vergleich und zur Sicherheit wurde stets die Reaktion nicht geimpfter Bouillon aufgenommen und diese allemal amphoter befunden.

Etwas anders war das Aussehen der Milch- und Traubenzuckerbouillonkulturen. Trübung und Bodensatz waren gleich wie in gewöhnlicher Nährbouillon. In der Mehrzahl der Fälle stellte sich mit dem Wachstum der Bakterien die Entwicklung von Gasbläschen ein. Diese stiegen in der Bouillon empor und sammelten sich auf der Oberfläche zu einem schaumigen Kranze an oder bedeckten sie ganz. Diese Gasbildung trat am 2. oder 3. Tage auf, wenn die Bouillon bei 37,5° C stand. In der Hälfte der Fälle bildete sich am 8.—12. Tage an der Oberfläche der Flüssigkeit eine weiße, sternförmige Kahlhaut, die beim Schütteln entweder in toto oder in Fetzen auf den Boden sank.

Die Reaktion 8-tägiger Kulturen war meist eine schwach saure; nach 14 Tagen war sie jedoch intensiv. Traubenzuckerbouillon wurde stets rascher und stärker sauer. Nur wenige der gefundenen Kokken säuerten die zuckerhaltigen Nährmedien nicht. Ein Stamm zersetzte wohl den Traubenzucker, nicht aber den Milchzucker; dieser brachte auch Milch nicht zur Säuerung (12). Neutral blieben die Kulturen 15, 29 und 31, alkalisch 28.

Das mikroskopische Bild der gezüchteten Kokken war durchwegs fast gleich. Die Größe schwankte von 0,75 μ bis 1,25 μ und war mit Ausnahme der Milch in allen Nährmedien gleich. In Milch waren die Kokken bedeutend dicker geworden und hatten oft eine ovale Form angenommen; ebenso nahmen die Einzelglieder der in der Milch gebildeten Ketten meistens eine längliche Form an, so daß sich die Durchmesser wie 1 : 1,5 verhielten. Kettenbildung trat ebenfalls in milch- und traubenzuckerhaltiger Bouillon auf. Sowohl hier wie in der Milch waren Einzelkokken, kurze, 4—5-gliedrige, oft aber bis 20- und mehrgliedrige Ketten anzutreffen. Besonders auffallend waren darin die Doppelketten. Bei mehreren Stämmen lagerten sich nämlich die Ketten so aneinander, daß sich je 2 Einzelindividuen mit der Längsseite berührten. Diese Doppelketten besaßen eine Länge von 2—10 Gliedern.

Mit gewöhnlichen Anilinfarbstoffen und nach der Gramschen Methode waren alle Kokken gut färbbar.

Das Wachstum bei Zimmertemperatur (15—20° C) war durchweg ein schwaches oder ein solches blieb überhaupt aus. Sehr gut gediehen sie bei Bruttemperatur (37,5° C).

Die Lebensfähigkeit der Kokken in gewöhnlicher Bouillon ist eine sehr lange; sie dauert mehr als 6 Wochen. Zum Beweis diene folgendes Experiment. Zur Wiederholung eines Versuches wurde vom Bodensatz einer gewöhnlichen Bouillon-, Milch- und Traubenzucker-

bouillonkultur in Bouillon übertragen; alle 3 Röhrrchen standen seit 6 Wochen bei Bruttemperatur; das erste war alkalisch, die beiden anderen sauer. Dabei stellte es sich heraus, daß nur in dem aus gewöhnlicher Bouillon geimpften Röhrrchen Wachstum eintrat, während die beiden anderen steril blieben. In der gewöhnlichen Bouillon waren die Mikrokokken also noch lebensfähig, während sie in der Milch- und Traubenzuckerbouillon abgestorben waren. Die Ursache ist wohl nur in der Alkaleszenz des ersten und in der starken Säurebildung der beiden anderen Nährmedien zu suchen.

Von den 31 Gelatinekulturen wurden 15 früher oder später verflüssigt, während 16 keine Verflüssigung zeigten. Die Verflüssigung begann oft am 2. oder 3. Tage, oft erst nach 14 Tagen. Von der Oberfläche aus wagerecht fortschreitend, war sie nach 2—4 Wochen eine vollständige und die Gelatine erhielt eine schleimige, fadenziehende Konsistenz, an deren Grunde sich ein grauweißer, dicker Bodensatz niedersetzte. Nie begann die Verflüssigung im Stich.

Das Wachstum der nicht verflüssigenden Kokken war in der Gelatine ein verschiedenes; in den meisten Fällen war es ein gutes, in 2 Fällen ein schwaches. 5mal fehlte ein Nagelkopf; wo ein solcher vorhanden war, nahm er rasch an Ausdehnung zu, blieb flach und erhielt eine ganzrandige oder lappige Kontur. 23 zeigte einen dicken, ca. 2 mm hohen, runden Nagel mit einer Delle.

Die Gerinnung der Milch vollzog sich in 26 Fällen in 2—14 Tagen, jedesmal war sie durch starke Säuerung entstanden. Das Gerinnsel war meist homogen, zog sich nach und nach fester zusammen und preßte ein anfangs grau-trübes, später klares Serum aus; diese Erscheinung konnte jedoch auch fehlen. Von den 5 nicht geronnenen Milchkulturen bildete No. 12 eine klumpige braune Masse mit alkalischer Reaktion, ebenso wurde Milch 15 hellbraun verfärbt. Die anderen 3 blieben bei wiederholten Versuchen ganz unverändert.

Auf Kartoffeln fand gewöhnlich ein gutes Wachstum statt. Die Gelatine verflüssigenden Kokken bildeten meist einen grauweißen, feuchten Ueberzug von mittlerer bis beträchtlicher Dicke, während die Gelatine nicht verflüssigenden im allgemeinen ein mehr trockenes, weißes bis hellbraunes, spärlicheres Wachstum zeigten. Besonders einheitlich war das Wachstum der Kokken aus dem Pansen, während dasjenige der aus dem Psalter gezüchteten Pilze ein ziemlich veränderliches Bild aufwies. Als exquisit chromogenes Bakterium wuchs No. 12 aus dem Psalter, indem es auf Kartoffeln einen orangegelben, glänzenden, dicken Belag bildete.

Gestützt auf die morphologischen, biologischen und kulturellen Merkmale der im Pansen und Psalter gefundenen Kokken glaube ich nebst einigen alleinstehenden Arten 2 größere Gruppen unterscheiden zu können. Zur ersten Gruppe sind No. 1—11 und 15, zur zweiten No. 16—27 und 30 zu zählen.

Gruppe I. Die hierher gehörenden Kokken haben einen Durchmesser von ca. 1 μ , wachsen auf allen gebräuchlichen Nährmedien, trüben Bouillon schwach mit schleimigem Bodensatz, Gelatine wird verflüssigt, Milch gerinnt durch Säuerung, darin wachsen sie zu Ketten aus, auf Kartoffeln bilden sie einen grauweißen feuchten Ueberzug. Diese botanischen Merkmale decken sich auffallenderweise mit denjenigen des *Staphylococcus mastitidis* und erlauben daher, diese Kokken mit dem genannten Mastitiserreger in ungezwungener Weise zu identifizieren.

Gruppe II. Diese ist charakterisiert durch Mikroorganismen von derselben Größe wie bei Gruppe I, die Bouillon ebenfalls schwach trüben, Gelatine aber nicht verflüssigen, teils mit, teils ohne Nagel wachsen, Milch durch Säuerung zur Gerinnung bringen und auf Kartoffeln einen weißen, grauweißen, hellbraunen bis gelblichen Ueberzug bilden. Eine Vergleichung mit den früher genannten Galaktokokken liegt hier gewiß nahe und gestattet die Annahme großer verwandtschaftlicher Beziehungen dieser beiden Bakteriengruppen zueinander.

In einer mir nachträglich zugekommenen von v. Freudenreich und J. Thöni (13) verfaßten Arbeit entnehme ich, daß diese Forscher aus ganz frisch gemolkener Milch eine große Anzahl verflüssigender und nicht verflüssigender Kokken isoliert und gezüchtet haben. Erstere haben sie nach ihren morphologischen und kulturellen Merkmalen in 4 Haupttypen mit verschiedenen Varietäten eingeteilt:

Typus I (Var. a u. b). Stark verflüssigende Kokken mit gelbem Pigment.

Typus II (Var. a, b u. c). Verflüssigende Kokken mit weißem Pigment.

Typus III (1 Var.). Stark verflüssigende Kokken mit weißem Pigment, auf Agar kaum sichtbar wachsend.

Typus IV. Verflüssigender Coccus mit weißlichem Pigment.

Beim Vergleich der von diesen Autoren in der Milch mit den von mir im Pansen und Psalter gefundenen verflüssigenden Kokken glaube ich eine sehr große Verwandtschaft einiger dieser Mikroorganismen konstatieren zu können. Demnach entsprechen

Typus I Var. a der No. 12

„ II „ a den No. 1—11

„ II „ c der No. 15

oder dem Typus des *Staphylococcus mastitidis*.

Die von den beiden Forschern gefundenen nicht verflüssigenden Kokken halten sie teilweise identisch mit den von Guillebeau beschriebenen Galaktokokken und teils mit dem von Barthel in seiner Arbeit als *Micrococcus A* bezeichneten Mikroorganismus, den er mit *M. candidans* identifizieren konnte, für sehr nahe verwandt. Dieser Umstand verdient große Berücksichtigung, weil dadurch die hämatogene Infektionstheorie eine weitere kräftige Stütze erlangt.

Vorliegende Arbeit wurde in dem veterinär-pathologischen Institute der Universität Bern auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers und Vorstehers, Herrn Prof. Dr. Guillebeau ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Guillebeau für seine stets bereitwillige und freundliche Unterstützung und lebenswürdige Fürsorge sowie für das rege Interesse an meiner Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Bang, Aarsagerne til Yverbetaendelse hos Kvaaget. Tjortende Beretning fra den Kgl. Veterinaer- og Landbohojskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsørg. Kjobenhavn 1889.
- 2) Bayer und Fröhner, Handbuch der tierärztlichen Chirurgie und Geburtshilfe. Bd. III. Lief. 11. Wien und Leipzig 1897.
- 3) Billroth, Krankheiten der Brüste. (Deutsche Chirurgie. p. 15.)
- 4) Bournay, Infektiöse Agalaktie. (Ann. de méd. vét. 1896. p. 265.)
- 5) Dèle, Mammite contagieuse. (Ann. de méd. vét. T. XI. 1891.)
- 6) Dieckerhoff, Die zu Stendorf in Holstein herrschende infektiöse Euterentzündung der Kühe. (Wochenschr. f. Tierheilkunde u. Viehzucht. Bd. XXII. 1878.)

- 7) Dieckerhoff, Die Krankheiten des Rindes. Berlin 1903.
- 8) Falleti, Mastite parenchimatosa contagiosa della vacche. (Il medico. vet. 1887. Zitiert nach Baumgartens Jahresberichten. 1887.)
- 9) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896.
- 10) Frank, Zur Aetiologie der Euterentzündung. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. II. 1876.)
- 11) — —, Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe. Berlin 1876.
- 12) v. Freudenreich, Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. XVII. 1903. Heft 3.)
- 13) v. Freudenreich und Thöni, J., Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. XVII. 1903. Heft 3.)
- 14) Gröning, Dissertation Bern, 1901.
- 15) Guillebeau, Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. IV. 1890.)
- 16) — —, Die sanitätspolizeiliche Kontrolle der Milchproduktion. (Compt. rend. du VIII. Congr. internat. d'hyg. et dermatographie. T. IV. 1896.)
- 17) Guillebeau und Hess, Ueber die Symptomatologie der Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und den übrigen Haustieren. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. V. 1891.)
- 18) — —, Ueber Symptomatologie und Therapie der Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Ibid. Bd. VIII. 1894.)
- 19) Härtle, Seuchenartige Mastitis. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. XVII. 1890.)
- 20) Hess und Borgeand, Eine kontagiöse Euterentzündung, gelber Galt genannt. (Schweizer Archiv f. Tierheilkunde. Bd. XXX. 1888.)
- 21) Hess und Guillebeau, Ueber infektiöse Agalaktie bei Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. VII. 1893.)
- 22) Hess, Schaffer und Bondzynski, Ueber die physikalischen und chemischen Veränderungen der Milch bei Milchfehlern und Euterentzündungen des Rindviehes und der Ziegen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. IV. 1890.)
- 23) Hock, Infektiöse Euterentzündung bei Kühen. (Wochenschr. f. Tierheilkunde u. Viehzucht. Bd. XXXV. 1891.)
- 24) Jensen, Bacterium coli commune som Hygdomaarsag hos Dyrene. (Maanedsskrift for Dyrlaeger. Bd. VIII. 1896. Zitiert nach Baumgartens Jahresberichten. Jahrg. XII.)
- 25) — —, Mastitis bei Tieren. (Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere von Lubarsch und Ostertag. Bd. IV. 1897.)
- 26) — —, Kontrolle der Milchproduktion. (Compt. rend. du VIII. Congr. internat. d'hyg. et dermatographie. T. IV. 1896.)
- 27) Kitt, Untersuchungen über die verschiedenen Formen der Euterentzündung. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermedizin u. vergleichende Pathologie. Bd. XII. 1886.)
- 28) — —, Neue Mitteilungen über Mastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilkunde. Bd. II. 1891.)
- 29) — —, Neues aus der Seuchenlehre und Bakteriologie. (Ibid. Bd. V. 1894.)
- 30) — —, Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie für Tierärzte. Wien 1899.
- 31) König, Lehrbuch der speziellen Chirurgie. Bd. I. p. 652.
- 32) Kotelmann, Ursachen des Abortus bei den Wiederkäuern und Schweinen etc. (Magazin von Gurlt und Hertwig. 1870. p. 388.)
- 33) Leblanc, P., Les maladies des mamelles chez les animaux domestiques. Paris 1901.
- 34) Lehmann u. Neumann, Bakteriologie und bakteriologische Diagnostik. München 1896.
- 35) List, A., Untersuchungen über die in und auf dem Körper des gesunden Schafes vorkommenden niederen Pilze. Dissertation Leipzig, 1885.
- 36) Lucet, Sur la nature infectieuse des mammites chez la vacche. (Rec. de méd. vét. T. VI. 1889.)
- 37) — —, De la congestion des mamelles et des mammites aiguës chez la vacche. Paris 1891.
- 38) — —, Mammites chroniques de Nocard et Mollereau. (Rec. de méd. vét. T. VIII. 1895.)
- 39) Möller und Frick, Lehrbuch der speziellen Chirurgie für Tierärzte. Stuttgart 1900.
- 40) Nélaton, Revue medic.-chirurgicale de Paris. T. XIII. p. 168.
- 41) Nocard, Mammite gangréneuse des brebis. (Bull. de la société centrale de méd. vét. 1887.)

- 42) Nocard et Mollereau, Sur une mammitte contagieuse des vaches laitières. (Arch. vétérinaires. 1884.)
 43) — —, Mammitte contagieuse. (Bull. de la société centrale de méd. vét. 1885.)
 44) Rubeli, Persönliche Mitteilungen.
 45) Schlösser, Zur vergleichenden pathologischen Anatomie und Aetiologie der Mastitis. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. IX. 1883.)
 46) Strebel, M., Zur ätiologischen Frage der parenchymatösen Euterentzündung beim Rinde. (Schweizer Archiv f. Tierheilkunde. Bd. XXX. 1888.)
 47) Streit, Dissertation Bern, 1901.
 48) Zschokke, Beitrag zur Kenntnis des gelben Galtes. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. VII. 1893.)
 49) — —, Weitere Untersuchungen über den gelben Galt. (Schweizer Archiv f. Tierheilkunde. Bd. XXXIX. 1897.)

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu dem Artikel über „Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung“ von Moritz Silberstein in No. 1 dieses Bandes vom 5. Nov. 1903.

Von Prof. E. Grawitz, Charlottenburg.

In seinem obengenannten Aufsätze gibt Silberstein erstens eine summarische Literaturübersicht über die Frage der „basophilen Körnungen“ in den roten Blutzellen, welche mehr geeignet ist, diese vieldiskutierte Frage zu verwirren, als zu klären, und zweitens hat er vollständig übersehen, daß die Bedeutung dieser „Körnungen“ im Malariablute schon vor seiner Publikation in sehr viel eingehenderer Weise gewürdigt worden ist.

In Bezug auf die Deutung der feinen basophilen Körner in den Erythrocyten zitiert mich Silberstein auf p. 74 als den hauptsächlichsten Vertreter der karyolytischen Entstehung der Körner, während ich gerade im Gegensatze hierzu als erster den degenerativen Charakter dieser Körner erkannt und die Veränderung demgemäß als „körnige Degeneration“ der Erythrocyten bezeichnet habe, weiterhin auch in Wort und Bild (vergl. meine „Klinische Pathologie des Blutes“. 2. Aufl. 1902) die Verschiedenheit dieser Degenerationen gegenüber den Produkten der Karyolyse ausführlich erörtert habe.

Aber auch über das spezielle Vorkommen dieser Körnungen bei Malariakranken habe ich in dem zitierten Buche auf p. 605 und 606 ausführlich dahin berichtet, daß sie sich in jedem Malariablute proportional der Schwere der Erkrankung finden, und daß diese Befunde in Rücksicht auf die sonstigen klinischen Beobachtungen über das Vorkommen dieser körnigen Degenerationen auf die Anwesenheit von toxischen Substanzen im Malariablute schließen lassen.

Ich erwähne an der genannten Stelle, daß diese toxischen Produkte vielleicht nicht allein auf die Malariaparasiten zurückzuführen sind, sondern auch der hyperplastischen Milz entstammen können, da nach den neueren Erfahrungen chronische Milztumoren anscheinend für sich selbst deletäre Stoffe zu produzieren vermögen.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Trypanosoma-Infektion beim Menschen.

Von Prof. F. Marchand, Leipzig und Dr. J. C. G. Ledingham, Aberdeen.

Mit 1 Abbildung.

Die Publikationen von Leishman (1), Donovan (2) und Ross (3) veranlassen uns zu folgender Mitteilung:

In der Sitzung der medizinischen Gesellschaft zu Leipzig am 3. Februar 1903 legte der eine von uns (Marchand) mikroskopische Präparate der Milz, der Leber und des Knochenmarkes von einem eigentümlichen Falle von Splenomegalie mit Anämie vor, der in Beziehung zu der sogenannten Bantischen Krankheit besprochen wurde (4).

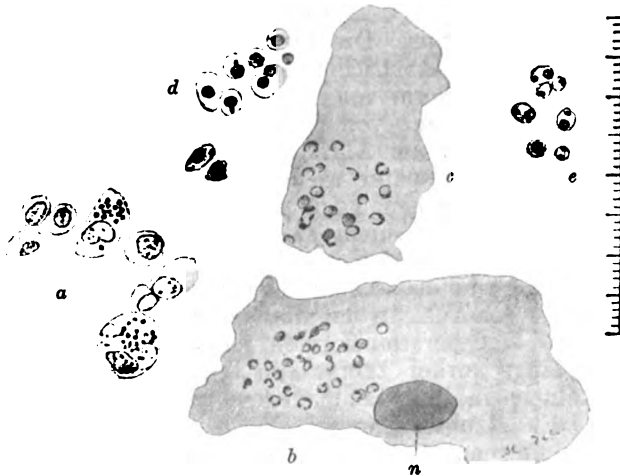
Es handelte sich um einen 23-jährigen, ursprünglich kräftigen Mann, der den Chinafeldzug mitgemacht hatte, angeblich aber sowohl während desselben als auch später gesund und gewesen war. Er erkrankte in Leipzig Ende Januar 1902 mit Appetitlosigkeit und Schwäche, Ende Februar traten morgens und nachmittags regelmäßige Anfälle von Kopfschmerzen und Schweißen auf, dazu kam Ende April Heiserkeit und Husten, weswegen er am 8. Mai die Klinik für Halskranke aufsuchte: wegen Verdachtes auf Malaria wurde der Kranke am 7. Juni auf die innere Klinik des Herrn Geh.-Rat Curschmann (St. Jakobs-Hospital) verlegt. Hier wurde bereits damals das Vorhandensein einer sehr starken Milzvergrößerung konstatiert (Länge 23,5). Wiederholte Untersuchungen des Blutes auf Malariaparasiten ergaben stets negative Resultate. Dabei bestand anhaltend Fieber von teils remittierendem, teils intermittierendem Charakter, doch ohne ganz regelmäßigen Typus, außerdem schwere Anämie und Durchfall. Anfangs August wurden Tuberkelbacillen im Sputum nachgewiesen. Allmählich entwickelte sich ein phthisischer Prozeß in der linken Lunge und Cystitis. Der Tod erfolgte am 12. Dezember 1902. Die im pathologischen Institute ausgeführte Sektion ergab eine vorgeschrittene Zerstörung der linken Lunge, dysenterische und tuberkulöse Geschwüre im Dickdarme, Cystitis und Pyelonephritis und eine sehr starke Vergrößerung der Milz (Länge 28 cm, Breite 15 cm, Gewicht 1750 g), welche etwas schlaff, stellenweise dunkel-, stellenweise heller graurot gefärbt war. Die Leber war wenig vergrößert, rötlich-braun; das Knochenmark rot.

Abstriche von der Milz wurden leider nicht gemacht, die Untersuchung des Leichenblutes ergab (abgesehen von der Anämie) keine wesentlichen Veränderungen. Um so überraschender war das Resultat der mikroskopischen Untersuchung der Milz, der Leber und des Knochenmarkes an Schnittpräparaten nach der Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit mit 5-proz. Formol, Alkohol.

In den Pulpazellen der Milz fanden sich äußerst zahlreiche, eigentümliche, mit Kernfarbstoffen (Hämatoxylin, Karbolfuchsin) stark sich färbende Körperchen von ca. 1—1,5 μ , die auf den ersten Blick an Mikokokken erinnerten, aber bei stärkerer Vergrößerung sich als größtenteils deutlich ringförmig erwiesen; ein Teil der Pulpazellen zeigte vorgeschrittenen Kernzerfall. Die Pfortaderkapillaren der Leber enthielten sehr zahlreiche große, amöbenartige Zellen, die das Lumen oft ganz ausfüllten und neben dem Kern eine sehr große Zahl derselben kleinen Körperchen einschlossen. Diese waren häufig in größeren

Gruppen in Vakuolen der Zellen gelegen; daneben nicht selten Leukocyten, zuweilen auch in größerer Zahl. Das Knochenmark enthielt außer den gewöhnlichen Markzellen ebenfalls große Mengen derselben großen amöbenartigen Phagocyten, die außerordentlich zahlreiche Körperchen der gleichen Art, daneben auch rote Blutkörperchen einschlossen. Dagegen fanden sich die Körperchen nie in roten Blutkörperchen, auch war niemals Pigment in Verbindung mit ihnen nachweisbar.

Bei stärkerer Vergrößerung untersucht, zeigten die Körperchen überraschend regelmäßige Formen; die meisten waren siegelringförmig mit heller Mitte; sehr viele zeigten neben diesem ringförmigen Chromatinkörper einen zweiten viel intensiver (besonders mit Karbolfuchsin) gefärbten Punkt von rundlicher oder länglicher Form, der unmittelbar an dem ersten Körper saß, oder durch einen kleinen Abstand von ihm getrennt war, meist in der Längsrichtung senkrecht zur Oberfläche des ersteren oder auch quergelagert. Viele dieser Körperchen, und zwar sowohl die in größeren Vakuolen der Zellen als auch die nicht ganz selten frei zwischen den Zellen gelegenen waren von einem sehr zarten, kaum gefärbten, rundlichen oder länglichen Hofe von 2—3 μ Durchmesser umschlossen (siehe Abbildung, Kopie einer damals vorgelegten Zeichnung).



a Mehrere Knochenmarkzellen, 460mal vergrößert; einige der großen Zellen enthalten die kleinen ringförmigen Körperchen, eine derselben auch Vakuolen.

b und c Zwei große Phagocyten des Knochenmarks mit zahlreichen Körperchen, welche teilweise stärkeren Zerfall zeigen.

d Mehrere isolierte Körperchen in ihrer Umhüllung aus dem Knochenmarke.

e Einige ähnliche aus der Milz.

(b—e 1250mal vergrößert reduziert.)

Diese Körperchen machten einen durchaus fremdartigen Eindruck; wir erinnerten uns nicht, etwas Aehnliches gesehen zu haben; die Vermutung, daß sie etwas mit Malariaplasmodien zu tun haben könnten, woran ja mit Rücksicht auf die Anamnese sowie den Fieberverlauf zunächst gedacht werden mußte, erwies sich als nicht haltbar, wenn auch noch immer gewisse Zweifel blieben, ob nicht doch etwa eine unbekannte Form von Malariaparasiten oder anderenfalls etwaige fremde Protozoen vorliegen könnten. Aus Mangel an bestimmten Anhalts-

punkten glaubte sich Marchand in seinem zitierten Vortrage dafür aussprechen zu müssen, daß es sich um Zerfallsprodukte von Kernen handle. Dafür schien namentlich das Verhalten der Pulpazellen der Milz zu sprechen, deren Kerne tatsächlich gruppenweise in alle möglichen Formen von Körnern und Fäden von Chromatinsubstanz zerfallen waren, die scheinbar alle Uebergänge zu den dazwischen gelegenen Ringkörperchen zeigten. Immerhin bezeichnete M. den Befund als ein noch ungelöstes Rätsel. Das Verhalten des Knochenmarks und der Leber, wo Zeichen von Kernzerfall fehlten, ließ immer von neuem Zweifel an jener Auffassung entstehen; die oft wiederholte eingehende Untersuchung der Körperchen während der folgenden Monate ließ die parasitäre protozoische Natur derselben immer sicherer erscheinen.

Bei Gelegenheit der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Kassel demonstrierte der eine von uns (M.) die Körperchen in der Sitzung der deutschen pathologischen Gesellschaft am 25. September 1903, doch konnte keiner der Anwesenden über die Natur der Körperchen Aufschluß geben, ebensowenig die Herren Prof. Korschelt und Brauer in Marburg, Prof. Chun in Leipzig, die die Güte hatten, die Präparate in Augenschein zu nehmen; die parasitäre Natur der Körperchen war auch diesen Herren nicht zweifelhaft. Leider kamen die zitierten Mitteilungen in dem British med. Journal erst Ende November zu unserer Kenntnis. Die Identität der von Leishman aufgefundenen Körperchen in Abstrichen der stark vergrößerten Milz eines an einer eigentümlichen Form von tropischem Fieber gestorbenen Soldaten aus dem Kantonement von Dum-Dum bei Kalkutta, sowie der von Donovan in Madras im April 1903 in Strichpräparaten der Milz (3mal post mortem, 1mal [später wiederholentlich] nach Punction intra vitam) gefundenen Körperchen kann nach der genauen Beschreibung, die Leishman gegeben hat, nicht zweifelhaft sein. Ein Nachweis der Körperchen in Schnittpräparaten scheint allerdings nicht geglückt zu sein, während derselbe in unserem Falle keine Schwierigkeit hatte.

Leishman ist der Ansicht, daß die von ihm aufgefundenen Körperchen im Milzsaft Degenerationsformen jener Art von Trypanosomen seien, die nicht lange vorher zuerst von Dutton (5) beim Menschen, und zwar bei einem in der Gambiagegend infizierten Mann, entdeckt worden waren. Er glaubt daher annehmen zu müssen, daß die Trypanosomenerkrankung auch in Indien vorkomme, während Donovan diese Annahme noch bezweifelt, da er in dem peripherischen Blute seines intra vitam untersuchten Falles keine Trypanosomen auffand. Leishman erklärt die Entstehung der Körperchen in der Weise, daß die Trypanosomen ihre undulierende Membran und die Geißel verlieren und daß nur der geschrumpfte Macronucleus mit dem Micronucleus zurückbleibt; er konnte sich tatsächlich von dieser fortschreitenden Umwandlung nach dem Tode der mit *Tr. Brucei* infizierten Ratten überzeugen. R. Ross findet auf Grund der Untersuchung der Präparate Donovans einige Schwierigkeiten für die Annahme der Ansicht Leishmans, da nach seiner Meinung, im Falle es sich um Reste von Trypanosomen handelte, wenigstens noch vereinzelte Geißeln sich finden müßten.

Leishman (6) widerlegt die Einwendungen von Ross, wie es scheint, mit guten Gründen. Die rötlich gefärbten Ringe um die Chromatinkörperchen, die sich in den intra vitam hergestellten Präparaten Donovans fanden und die zu der Annahme einer Lagerung der Chromatinkörper in Erythrocyten Anlaß gaben, könnten wohl Cysten oder

Kapseln sein. Immerhin hält es L. zur Zeit noch für unmöglich, zu entscheiden, ob die kleinen Körperchen neue Parasiten oder tatsächlich veränderte Trypanosomen seien. Laveran (7), der ebenfalls Gelegenheit hatte, die Präparate Donovans zu untersuchen, glaubt, daß es sich um ein neues Hämatozoon handelt, welches weder mit dem der Malaria noch mit *Trypanosoma* zu tun habe und zu der Gattung *Piroplasma* zu rechnen sei; er schlägt den Namen *P. Donovanii* vor¹⁾.

Laveran fand die Parasiten teils frei, teils in Blutkörperchen eingeschlossen, birnförmig oder oval, 2,5—3 μ lang, 1,5 μ breit, mit einem größeren Karyosom und einem kleineren accessorischen, das mit dem ersteren zuweilen durch einen kurzen Stiel verbunden war. Die infizierten Blutkörperchen nehmen aber nicht mehr dieselbe Färbung an wie die normalen, sondern verblassen. Diese blassen Körperchen (Ringe) sind wohl sicher identisch mit den oben beschriebenen, die wir jedoch nicht für Residuen roter Blutkörperchen halten konnten, sondern als Bestandteile der Parasiten betrachten. Wenn wir nun auch auf das Urteil eines so hervorragenden Protozoenkenners, wie Laveran, großen Wert legen, so möchten wir doch nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß Laveran und Mesnil selbst in ihrer Arbeit über *Trypanosoma Lewisi* (8) auf Tafel XI, Fig. 10 und 15 Veränderungen dieser Parasiten infolge von phagocytischer Aufnahme durch Leukocyten abbilden, die den von uns beschriebenen mindestens sehr ähnlich sehen. Die geringen Größenunterschiede (in Fig. 10) können wohl durch ein früheres Stadium der Veränderung oder auch durch Artverschiedenheit bedingt sein. Wenn es sich, was wir demnach für wahrscheinlich halten, auch in unserem Falle um *Trypanosoma*-Infektion handelte, so ist wohl als sicher anzunehmen, daß die Infektion während des Aufenthaltes in China stattgefunden hat. Freilich ist eine so lange Latenz, vorausgesetzt, daß die anamnestischen Angaben richtig waren, sehr auffallend. Andererseits wäre die Möglichkeit einer ähnlichen Infektion auch in unseren Gegenden wohl nicht ganz ausgeschlossen, wenn auch im vorliegenden Falle (Erkrankung im Winter!) mehr als unwahrscheinlich.

Der Fall wird an anderer Stelle genauer beschrieben werden.

Nachträglicher Zusatz.

Der Stiefvater des Verstorbenen machte auf meine Anfrage folgende wichtigen Angaben, die von mir in keiner Weise beeinflusst worden sind: Sein Sohn sei als Soldat in Peking gewesen und habe dann längere Zeit vor der großen Mauer gelegen. Bei einem langen Marsche habe er einen Fliegenstich am Fuße erhalten, infolgedessen das Bein stark anschwell, so daß er den Stiefel nicht anziehen konnte und etwa 8 Tage lang im Lazarett lag. Von anderweitigen Erkrankungen ist den Eltern nichts bekannt geworden. Nach der Rückkehr ist der Verstorbene nach einem kurzen Aufenthalte im Barackenlager etwa $\frac{1}{4}$ Jahr in der Nähe von Leipzig als Nachwächter beschäftigt gewesen; er soll ein verändertes mürrisches Wesen gezeigt haben, aber nicht eigentlich krank gewesen sein. M.

1) Die Priorität der Entdeckung gebührt jedenfalls Leishman. Beschrieben sind die Körperchen zuerst von Marchand, doch legen wir darauf keinen großen Wert, da Leishman das Verdienst hat, die Beziehung derselben zu *Trypanosoma* erkannt zu haben.

Zusatz bei der Korrektur: J. H. Wright fand neuerdings ganz ähnliche Körperchen in großer Zahl in den Granulationszellen bei Delhi-Beule (Journ. of med. research. Vol. X. Dec. 1903).

Literatur.

- 1) Brit. med. Journ. Vol. V. 1903. May 30. p. 1253.
- 2) Brit. med. Journ. 1903. July 11. p. 79.
- 3) Brit. med. Journ. 1903. Nov. 14. p. 1261.
- 4) Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 11. 17. März.
- 5) Brit. med. Journ. 1902. Sept. 20.
- 6) Brit. med. Journ. 1903. Nov. 24.
- 7) Bull. de l'acad. de méd. 1903. No. 35. p. 238.
- 8) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 673.

Nachdruck verboten.

Weitere Mitteilungen über Paramphistomiden der Säugetiere.

[Aus dem zoologischen Museum zu Königsberg i. Pr.]

Von Dr. F. Fischeoeder, Kreistierarzt in Königsberg i. Pr.

Nach Fertigstellung meiner Arbeit „Die Paramphistomiden der Säugetiere“ (Zool. Jahrb. Abt. f. System. Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XVII. 1903. Heft 4. p. 486—660) habe ich aus Alfort, Berlin und Greifswald weiteres Material erhalten. Indem ich den Verwaltungen der betreffenden Sammlungen meinen Dank für die Ueberlassung des Materiales ausspreche, will ich gleich hervorheben, daß ich unter demselben nur Vertreter der Gattungen *Paramphistomum* und *Gastrothylax* vorgefunden habe, und daß diese beiden Gattungen keineswegs nur so selten in den Gallenwegen ihren Wohnsitz haben, sondern daß, abgesehen von *Paramphistomum explanatum* (Crepl.), auch *Paramphistomum bathycotyle* Fischdr. und *Gastrothylax cobboldi* Poirier in den Gallenwegen gefunden worden sind. Bezüglich der einzelnen Arten ist folgendes zu bemerken:

I. Genus *Paramphistomum*.

1) *Paramphistomum cervi* (Zed.) habe ich auch diesmal nur unter dem aus europäischen Wirten stammenden Material (von *Bos taurus*) gefunden. Meine frühere Behauptung, daß *Paramphistomum cervi* wahrscheinlich nur in der paläarktischen Zone vorkommt, ist demnach auch durch meine weiteren Untersuchungen bestätigt worden.

2) *Paramphistomum liorchis* Fischdr., welches ich früher nur unter dem Wiener, von Natterer bei brasilianischen Hirschen gesammelten Material angetroffen habe, fand ich jetzt in etwa 200 Exemplaren auch in einem Glase des zoologischen Museums zu Greifswald mit der Bezeichnung: „*Amphist. conicum* (Rud.) e rumine *Cervi spec.*, Surinam, Febr., Deutschbein G.“

3) Die von mir im Pansen von *Bos kerabau* aus Ceylon vorgefundene neue Art *Paramphistomum bathycotyle* Fischdr. hat auch Gomy im Jahre 1897 in 16 Exemplaren in den Gallenwegen (!) von *Buffelus indicus* (*Bos bubalus* L.) in Gonap bei Saïgon (Cochinchina) gefunden.

4) *Paramphistomum explanatum* = *Amphistomum explanatum* Crepl. 1847 besitzt zwar eine große Aehnlichkeit mit *Paramphistomum bathycotyle*, unterscheidet sich aber auch schon äußerlich, abgesehen von der geringeren Größe (8,0—13,0 mm lang) besonders durch die noch mächtigere Entwicklung des Saugnapfes, dessen Durchmesser beinahe die Hälfte der Körperlänge erreicht. Der Oesophagus ist etwas kürzer als der etwa 1,0 mm lange Pharynx, und die stärker als bei *P. bathycotyle* geschlängelten Darmschenkel endigen erst kurz vor dem Grunde des Saugnapfes. Die wenig auffällige Genitalöffnung etwa in der Höhe der Darmgabelung. Die stark gelappten Hoden liegen etwas mehr schräg hintereinander als bei *P. bathycotyle*, während bezüglich der Lage der übrigen Genitalorgane die Abweichungen nur unbedeutend sind. Der Laurersche Kanal kreuzt sich mit der Exkretionsblase. Beide münden median, ersterer in der Höhe des Keimstockes, letzterer etwa an der Grenze des vorderen und hinteren Hodens.

Vorkommen: Gallenwege von 1) *Bos taurus indicus* (Zoologisches Museum zu Greifswald [Typus] und hygienisches Institut der tierärztlichen Hochschule zu Berlin No. G. 284); 2) *Bos bubalus* L., Cochinchina, Sammlung von Railliet-Alfort.

5) *Paramphistomum epicitum* n. sp. Bei den 5,0—9,0 mm langen und im hinteren Körperdrittel 2,0—3,0 mm dicken Exemplaren ist das vordere Körperende in der Regel stark ventralwärts geneigt. Der Durchmesser des Saugnapfes beträgt $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{4}$ der Körperlänge. Der 0,6 bis 0,8 mm lange Oesophagus ist ebenso lang wie der Pharynx, und die stark geschlängelten Darmschenkel endigen am Grunde des Saugnapfes. Die stark muskulöse Genitalöffnung im hinteren Ende des vorderen Körperdrittels, weit hinter der Darmgabelung. Hoden stark gelappt, wenig schräg hinter einander, weit nach hinten verschoben. Im übrigen ist die Lage der Genitalien ähnlich wie bei *P. cervi*. Kreuzung zwischen Laurerschem Kanal und Exkretionsblase vorhanden. Beide münden median, ersterer etwa in der Höhe der Schalendrüse, Exkretionsporus 0,8—1,5 mm davor.

Vorkommen: Pansen und Haube von 1) *Bos bubalus* L., Cochinchina (Sammlung von Railliet-Alfort [Typus]); 2) *Bos taurus indicus* (Hygienisches Institut der tierärztl. Hochschule zu Berlin No. G. 280).

6) *Paramphistomum scolicoelium* n. sp. Die geradegestreckten Tiere sind 2,0—6,0 mm lang und 0,7—2,5 mm breit. Der Durchmesser des Saugnapfes beträgt $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{5}$ der Körperlänge. Der Oesophagus ist etwas länger als der Pharynx und zeigt ähnlich wie bei *P. cotylophorum* eine 0,05—0,075 mm starke Verdickung seiner Wandmuskulatur. Die ziemlich stark gewundenen Darmschenkel reichen bis zum Saugnapfe. Lage der von einer kräftigen Muskulatur umgebenen Genitalöffnung in der Höhe oder kurz hinter der Darmgabelung. Die mehr oder weniger stark gelappten Hoden weichen nur wenig von der Medianlinie ab. Keimstock und Schalendrüse dicht vor dem Saugnapfe. Die zu großen Gruppen vereinigten Dotterstockfollikel bleiben fast ausschließlich auf die Seitenteile des Körpers beschränkt. Kreuzung zwischen dem Laurerschen Kanal und Exkretionsblase nicht vorhanden. Ersterer mündet 0,5—1,0 mm vor dem Exkretionsporus.

Vorkommen: Pansen und Haube von 1) *Bos bubalus* L., Cochinchina (Sammlung von Railliet-Alfort); 2) *Bos taurus*, Annam (dieselbe Sammlung).

7) Von *Paramphistomum bothriophoron* (M. Br.) fand ich unter mehreren Hundert Exemplaren von *Gastrothylax mancupatus* 6 Exemplare in einem Glase der Raillietschen Sammlung, welche, wie alle bisher gefundenen anderen Exemplare dieser Art, ebenfalls von *Bos taurus*, Madagaskar (Gréa 1896) stammten.

8) *Paramphistomum calicophorum* Fischdr. ist dagegen unter zahlreichen Exemplaren von *P. epiclitum*, *Gastroth. cobboldi* und *Gastroth. crumenifer* von Gomy im Jahre 1897 bei einem neuen Wirte, nämlich bei *Bos bubalus* L. (Haube und Schlundrinne) in Saïgon (Cochinchina) in 6 Exemplaren gefunden worden (Sammlung von Railliet-Alfort).

9) Bei *Paramphistomum cotylophorum* Fischdr. ist als neue Heimat Annam (Cha-Trang) zu nennen, wo Ch. Cavié im Jahre 1899 aus dem Pansen von *Bos taurus* 12 Vertreter dieser Art neben 5 Exemplaren von *P. scolicoelium* und 1 Exemplar von *Gastroth. mancupatus* gesammelt hat (Sammlung von Railliet).

II. Genus *Gastrothylax* Poirier.

1) Bei *Gastrothylax crumenifer* (Crepl.) habe ich als neue Wirte zu nennen: 1) *Bos taurus*, Tonkin, 11 Exemplare gesammelt von Cattoir im Jahre 1888, und 13 Exemplare gesammelt von Giller in Dap-Can im Jahre 1895; 2) *Bos bubalus* L., Cochinchina (Saïgon), 1 Exemplar unter zahlreichen Exemplaren von *P. epiclitum*, *P. calicophorum* und *Gastroth. cobboldi*, gesammelt von Gomy 1897 (sämtlich in der Sammlung von Railliet).

Außer den neuen Wirten ist besonders bemerkenswert die geringe Anzahl der vorgefundenen Exemplare und ihre geringe Größe; sie waren nur 6,0–12,0 mm lang und 2,5–5,0 mm breit, während die früher beschriebenen Tiere eine Länge von 9,0–15,0–18,0 mm und ebenfalls eine $\frac{1}{3}$ bis fast $\frac{1}{2}$ der Körperlänge betragende Breite besaßen.

2) Ebenso ist bei *Gastrothylax elongatus* Poirier über zwei neue Wirte zu berichten: 1) *Bos bubalus* L., Annam (Nha-Trang), etwa 200 Exemplare, gesammelt von Ch. Cavié im Jahre 1899 neben *Paramph. scolicoelium*, *Gastroth. cobboldi* und *G. minutus*. 2) *Bibos indicus* (Zebu), 2 Exemplare, gesammelt im Jahre 1888 von Moulé im jardin d'acclimation de Paris (Sammlung von Railliet).

Auch bei dieser Art sind die Größenunterschiede der Exemplare auffallend. Während nämlich die Länge von *G. elongatus* früher auf 10,0–20,0 mm und ihr Querdurchmesser auf etwas über $\frac{1}{4}$ der Körperlänge angegeben worden ist, besaßen bei annähernd demselben Verhältnis zwischen dem Längs- und Querdurchmesser die bei *Bos bubalus* gefundenen reifen Exemplare nur eine Länge von 6,0–12,0 mm, und von den aus *Bibos indicus* stammenden Exemplaren war das eine 20,0 mm und das andere 22,0 mm lang.

3) Auch *Gastrothylax cobboldi* Poirier ist bei zwei neuen Wirten gefunden worden, nämlich 1) bei *Bos bubalus* L., Annam (Nha-Trang) von Ch. Cavié 1899, 3 Exemplare im Pansen unter *G. elongatus*, *G. minutus* und *P. scolicoelium*; ferner von Gomy in Cochinchina (Saïgon) im Jahre 1897 zahlreiche Exemplare in der Haube und in der Schlundrinne neben *G. crumenifer*, *P. epiclitum*, *P. calicophorum* und *P. scolicoelium* und im Jahre 1896 3 Exemplare in den Gallenwegen (!) (Sammlung von Railliet). 2) Im Pansen von *Cervus brokei* Hase in Brit. Nord-Borneo von Dr. Pagel (Berliner Museum No. 3981).

Außer den neuen Wirten ist hier wie bei *P. bathycotyle* das Vorkommen in den Vormägen und in den Gallenwegen (!) besonders hervorzuheben. Ferner ist auch bei *G. cobboldi*, ähnlich wie bei den beiden vorhergehenden Arten, die verschiedene Größe der Exemplare bemerkenswert. Während nämlich die mir bei den früheren Untersuchungen vorliegenden Exemplare eine Länge von 8,0—10,0 mm bei einem etwa die Hälfte der Körperlänge betragenden Querdurchmesser besaßen, waren beim gleichen Verhältnis zwischen Längs- und Querdurchmesser die aus dem Pansen von *Cervus brokei* und die aus den Gallenwegen von *Bos bubalus* stammenden Exemplare nur 5,0—7,0 mm, die aus der Haube und aus der Schlundrinne stammenden Exemplare dagegen 9,0—12,0 mm lang. Unter den letztgenannten Tieren befanden sich auch 3 Exemplare, welche sogar eine Länge bis zu 15,0 mm besaßen und nicht die von mir (Zool. Jahrb. Bd. XVII. 1903. Heft 4. p. 580) beschriebene Form einer Birne zeigten, sondern sie waren langgestreckt, walzenförmig, ähnlich wie *G. elongatus*, jedoch bedeutend gedrungener gebaut, so daß ich sie anfangs für eine neue Art hielt. Erst die Ergebnisse der näheren Untersuchung, insbesondere die Ausdehnung und die Gestalt der auf dem Querschnitt in Form eines mit der Spitze ventralwärts gerichteten gleichschenkeligen Dreiecks erscheinende Bauchtasche, der Verlauf der bis zum Grunde des Saugnapfes reichenden Darmschenkel und schließlich auch die mediane Lage der beiden Hoden ließen es außer Zweifel, daß es sich um große, langgestreckte Exemplare von *G. cobboldi* handelte. Die Lage der Hoden war hier, wahrscheinlich infolge der Streckung, eine ähnliche wie bei *G. elongatus*. Sie lagen nicht, wie bei den früher von mir untersuchten Exemplaren, in dorsoventraler, sondern in fast ganz longitudinaler Richtung hintereinander, und zwar der dorsale vor dem ventralen.

4) Das Vorkommen von *Gastrothylax mancupatus* Fischdr. im Pansen von *Bos taurus* in Madagaskar habe ich auch durch das Vorfinden von ca. 500 Exemplaren (neben 6 Stück *P. bothriophoron*) in einem Glase der Sammlung von Railliet bestätigt gefunden. Außerdem fand ich auch 1 Exemplar unter *P. cotylophorum* und *P. scoliocoelium* in einem anderen Glase derselben Sammlung, welches aus *Bos taurus*, Annam (Cha-Trang) Material enthielt.

5) Bei *Gastrothylax minutus* Fischdr. ist als neuer Wirt *Bos bubalus* L., Annam (Nha-Trang) zu nennen; 10 Exemplare neben *G. elongatus*, *G. cobboldi* und *P. scoliocoelium*, gesammelt von Ch. Cavié 1899 (Sammlung von Railliet).

Die genaue Beschreibung von *Paramphistomum explanatum*, *P. epiclitum* und *P. scoliocoelium* erfolgt an anderer Stelle.

Nachdruck verboten.

Einige Bemerkungen zu Pieris „kurzer Erwiderung“ etc.

Von Dr. A. Looss, School of Medicine, Cairo.

In No. 6. Bd. XXXIV dieser Zeitschrift bringt Herr Dr. G. Pieri eine „Kurze Erwiderung“ auf meinen Artikel: Weiteres über die Einwanderung der Ankylostomen von der Haut aus. Er beklagt am Anfange dieser Erwiderung, wie er sagt, „höchlichst die von mir gegen seinen Lehrer, Prof. Grassi, und ihn selbst gerichteten persönlichen Angriffe“, übergeht sie aber mit Stillschweigen, da er „einzig und allein von der leidenschaftslosen Forschung nach Wahrheit geleitet werde“. Ich bedaure, daß Pieri nicht angibt, worin er die persönlichen Angriffe gefunden hat; ich kann in meinem Artikel von Angriffen gegen die Personen Grassis oder Pieris nichts finden. Wohl aber habe ich die Untersuchungen des letzteren, und die auf dieselben gegründeten Schlußfolgerungen einer Kritik unterworfen, und ich habe diese Kritik auch gegen Grassi gerichtet, da dieser die Arbeit Pieris angeregt, geleitet und ihre Resultate der römischen Akademie vorgelegt hat.

An dem, was ich in meinem Artikel gesagt habe, wird durch die neueren Ausführungen Pieris nicht das Mindeste geändert; ich halte es für unnütz, Einzelheiten hier nochmals zur Sprache zu bringen.

Dagegen interessiert mich lebhaft ein Punkt aus Pieris Angaben zur Sache selbst; das ist das Faktum, daß Dr. Noé, der sich bekanntlich gleichzeitig mit Pieri und Grassi durch die Haut infiziert hatte, „gegenwärtig eine sehr leichte Ankylostoma-Infektion zeigt“. Man wird sich entsinnen, daß ich in meinem Artikel diese Infektion Noés vorausgesagt hatte; Pieri erklärt sie nun damit, daß Noé „fortgefahren hatte, an seinem (Pieris) Arbeitstische zu arbeiten, wo es nicht leicht war, genügende Vorsichtsmaßregeln anzuwenden, und daß er (Noé) nach dem Datum der negativen Untersuchung der Faeces sich in eine Stadt begab und längere Zeit verblieb, wo die Ankylostomen heimisch sind“. Ich will hierzu beiläufig bemerken, daß Pieri mit dieser Erklärung in einer gewissen Hinsicht gegen sich selbst argumentiert. Er hat in seiner ersten Mitteilung ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Infektionsversuche an Grassi und Noé als Kontrollversuche gedacht waren. In der Ueberzeugung, daß er während seiner Arbeit mit den Ankylostoma-Larven leicht zufällig durch den Mund infiziert werden könnte, und daß demnach ein eventuelles positives Resultat an ihm nicht einwandfrei sein würde, dehnte er den Versuch auch auf die beiden anderen Herren aus, bei denen die Möglichkeit einer zufälligen Infektion ausgeschlossen sein sollte, da sie nicht mit dem Kulturmateriale arbeiteten. Bis hierher kann Pieris Verfahren nur gebilligt werden; wenn er aber jetzt angibt, daß Noé „fortfuhr“, an seinem Tische zu arbeiten (demnach auch schon vorher an diesem Tische gearbeitet hat), unter Bedingungen also, in denen nach Pieris eigener Ansicht eine zufällige Infektion nicht nur außerordentlich leicht möglich, sondern sogar kaum zu vermeiden war, dann scheint das Prinzip des „Kontrollversuches“ nur mangelhaft gewahrt worden zu sein.

Doch dies, wie gesagt, nur nebenbei; wichtiger ist, daß Noé gegenwärtig infiziert ist, wie ich es erwartet hatte. Wie dürfte nun diese Infektion zu stande gekommen sein? Pieri erklärt sie in der oben

bereits angegebenen, geheimnisvollen Weise, auf die er sich früher selbst infiziert zu haben glaubt, nämlich dadurch, daß auf die Hände gelangte Larven sich nicht, wie sie sonst zu tun pflegen, sofort in die Haut eingebohrt, sondern gewartet haben, bis sie gelegentlich in den Mund eingeführt wurden. Ich meinerseits bin vollkommen davon überzeugt, daß Noés Ankylostomen von der ersten Infektion durch die Haut herrühren. Der strikte Beweis hierfür dürfte zur Zeit allerdings kaum noch zu erbringen sein, doch würden sich immerhin interessante Hinweise ergeben, wenn Noé sich entschlosse, seine Würmer abzutreiben. Pieris erster Versuch war nämlich, wie der Autor erst jetzt berichtet, mit *Necator americanus* (= *Uncinaria americana* Stiles) ausgeführt worden; später dagegen hat er mit *Ancylostomum duodenale* gearbeitet. Würde sich nun zeigen, daß Noé Exemplare der amerikanischen Art beherbergt, so müßten diese notwendig aus der Zeit der ersten Infektion stammen, erwiesen sich die Parasiten Noés als *Ancylostomum duodenale*, dann dürfte dies tatsächlich für eine spätere zufällige Infektion Noés sprechen. Uebrigens wird sich die Frage auch durch eine genaue Messung der in den Stühlen vorhandenen Eier entscheiden lassen.

Weiter bespricht Pieri in seinem Artikel auch die von mir am Menschen und an Hunden angestellten Versuche, und bemerkt betreffs derselben: „Es ist nicht möglich, über den Wert dieser Experimente zu diskutieren, da der Verfasser nicht ausführlich die Daten angegeben, welche notwendig sind, die genauen Bedingungen, in welchen dieselben stattgefunden, klarzulegen und jeden Zweifel an einer Infektion per os auszuschließen“. Leider bietet dieser Einwand auch nicht einen positiven Anhaltspunkt, um darauf erwidern zu können. Da ich glaube, meine Versuche unter den möglichsten Kautelen angestellt, und vor allem eine Infektion per os positiv ausgeschlossen zu haben, so muß ich Pieri ersuchen, meinen Artikel zunächst noch einmal sorgfältig zu lesen, und mir dann sachlich und in verständlicher Weise diejenigen Punkte zu nennen, die ihm von mir nicht genügend aufgeklärt zu sein scheinen. Betreffs meines Versuches am Menschen äußert er sich speziell in folgender Weise: „Auch ist der Zustand des Individuums, mit welchem Looss sein Experiment angestellt hat, kein zu vernachlässigender Umstand“ — in meinem Artikel steht deutlich, nach welchem Prinzipie ich meine Versuchsperson ausgewählt habe — „wissen wir doch alle — und Looss gewiß besser als ich — wie unsicher es ist, derartige delikate Experimente mit ungebildeten Personen anzustellen, da uns dieselben oft täuschen ohne es zu wollen und zu wissen. Diese Betrachtung war es, welche uns bestimmte, das Experiment an uns selbst anzustellen.“ Betreffs des letzteren Punktes habe ich oben bereits bemerkt, daß Pieris Versuche allem Anscheine nach nicht so einwandfrei durchgeführt wurden, als sie beabsichtigt waren; wie meine Versuchsperson mich aber getäuscht haben soll, „ohne es zu wollen und zu wissen“, verstehe ich nicht. Der Mann wußte, anfangs wenigstens, überhaupt nicht, worum es sich bei dem Versuche handelte¹⁾ und hatte nicht das geringste Interesse an einem positiven oder negativen Erfolge des Versuches, da er seine monatliche Belohnung bezog (und zur Zeit noch bezieht), gleichgültig ob das eine oder das andere der Fall war; seine einzige Ver-

1) Bei den Verhandlungen war er einfach gefragt worden, ob er geneigt sei, an sich ein Experiment wiederholen zu lassen, welches ich vorher an mir selbst gemacht; daß dasselbe keine üblen Folgen hinterlasse, davon könne er sich an meiner Person überzeugen. Darauf ist der Mann ohne große Bedenken eingegangen.

pflichtung bestand darin, mir zu gewissen Terminen seine Stühle zur Untersuchung zu bringen. Hierbei hätte er mich allerdings, und zwar wissentlich, in einer Weise täuschen können, dadurch nämlich, daß er mir nicht seine, sondern fremde Stühle brachte. Ich habe diese Möglichkeit im Anfange tatsächlich scharf im Auge gehabt, mich aber bald überzeugt, daß mein Argwohn grundlos war. Denn sämtliche mir zur Untersuchung von ihm gelieferten Faecesproben enthielten die *Strongyloides*-Larven, neben diesen aber keine anderen Parasiteneier (abgesehen natürlich von den später auftretenden Ankylostoma-Eiern). Es dürfte meinem Mann schwer geworden sein, eine zweite Person ausfindig zu machen, deren Stühle dasselbe Verhalten zeigten; deshalb bin ich positiv sicher, in dieser Hinsicht von ihm nicht getäuscht worden zu sein, gar nicht zu reden davon, daß seinerseits jedes plausible Motiv für eine beabsichtigte Täuschung gefehlt hätte. Ueber die Möglichkeit, daß meine Versuchsperson während der Dauer des Versuches zufällig anderweit infiziert worden sein sollte, und über den Zeitpunkt, zu welchem dies geschehen sein müßte, habe ich bereits in meinem Artikel gesprochen; sie liegt unter den obwaltenden Umständen völlig außerhalb des Bereiches der Wahrscheinlichkeit. So muß ich Dr. Pieri bitten, sich auch betreffs dieses Einwandes gegen die Beweiskraft meiner Experimente in präziser Weise und so auszusprechen, daß ich ihm Rede stehen kann.

Was nun die Hunde anlangt, die von ihrer Geburt an in Gefangenschaft und unter Aufsicht gehalten waren, sollten auch sie mich, übereinstimmend mit dem Menschen, getäuscht haben, „ohne es zu wollen und zu wissen“? Ich wäre Pieri zu Danke verpflichtet, wenn er sich hierüber eingehender äußern würde; mit solch allgemein gehaltenen Einwänden, wie er sie meinen Versuchen gegenüber macht, kann man, wenn man will, die Beweiskraft jedes Experimentes anzweifeln. Ich scheine übrigens unter einer „leidenschaftlosen Forschung nach Wahrheit“ (von der Pieri, wie er uns versichert, „einzig und allein geleitet wird“) etwas anderes zu verstehen, als der italienische Kollege.

Pieri schließt seine Erwiderung mit den Worten: „Meinerseits glaube ich, daß die definitive Lösung des Problems nur dann gegeben werden kann, wenn wir das Schicksal der Larven nach dem Eindringen in die Haarfollikel¹⁾ bis zu ihrem Erscheinen in der Darmwand verfolgt haben werden, was ich binnen kurzem zu tun hoffe“. Ja, wenn Pieri tatsächlich „hofft“, dies zu tun, dann begreife ich nicht, warum er gegen meine Behauptung ankämpft und die zu ihrem Beweise von mir angestellten Experimente mit nichtssagenden Einwänden zu diskreditieren sucht. Er hat bereits in seiner ersten Mitteilung Untersuchungen über den Verbleib der Larven im Körper in Aussicht gestellt; es wäre zweifellos besser gewesen, diese Untersuchungen auszuführen, ehe er seine Erwiderung schrieb, dann hätte er sich selbst und mir die gegenwärtige unangenehme Diskussion erspart. Im übrigen soll es mich freuen, wenn Pieri das gelingt, was er vor hat; er würde damit allerdings nicht, wie er in seinem Schlußsatze sagt, die „definitive Lösung des Problems“ bringen, sondern nur bestätigen, was ich selbst bereits bewiesen habe. Ich besitze von der Wanderung der jungen Ankylostomen von der Haut nach dem Darm bereits eine ziemlich vollständige Serie von Präparaten, und werde mir gestatten, dieselben auf

1) Im Original steht irrtümlicherweise: „dem Eindringen der Haare in die Follikel“.

dem nächstjährigen internationalen Zoologenkongresse (und eventuell auch anderswo) allen denen vorzulegen, die sich dafür interessieren.

Cairo, 20. November 1903.

Nachschrift.

In einem neueren Artikel¹⁾ kommt Pieri auf den Gegenstand zurück und berichtet über vier weitere, von ihm angestellte Experimente, drei mit *Anc. caninum* am Hunde, eines mit *Anc. duodenale* am Menschen. Nach Pieri sollen alle vier Experimente vollkommen negativ ausgefallen sein, er kehrt daraufhin zu dem bereits in seinem ersten Artikel vertretenen Standpunkte zurück, „che l'unica via per cui avvenga la infezione sia quella orale, per l'ingoiamento delle larve mature“. Ich verspreche mir keinen Erfolg von einer Fortsetzung der Diskussion in der bisherigen Weise und verzichte deshalb auf eine Kritik der Versuche Pieris im einzelnen. Aus seinen Versuchen am Hunde geht hervor, daß die Larven des *Anc. caninum*, auf die Haut des Hundes gebracht, in Italien genau so in diese eindringen und dabei genau dieselben Erscheinungen hervorrufen, wie ich es in Aegypten beobachtet und beschrieben habe. Während sie in Aegypten aber nach einiger Zeit im Darne erscheinen und sich bei Anwendung geeigneter Methoden auch auf den verschiedenen Etappen ihrer Wanderung nachweisen lassen, verschwinden sie nach Pieri in Italien nach ihrem Eindringen in die Haut spurlos. Für mich geht daraus hervor, daß Pieri nicht verstanden hat, die Larven aufzufinden; mit der Handlupe, oder bei mikroskopischer Untersuchung der ganzen, mit der Schere abgeschnittenen und gepreßten Darmschleimhaut, wie es Pieri getan hat, findet man sie auch ganz gewiß nicht. Wohl aber würde Pieri ein positives Resultat erhalten haben, wenn er entweder länger gewartet, oder nach den jungen Larven sorgfältiger gesucht hätte. Aus seinen bisherigen Versuchen ergibt sich als neue, aber nicht überraschende Tatsache nur, daß die Larven in alten Hunden (mit denen Pieri anscheinend experimentierte) ungleich langsamer vorwärts kommen, als in jungen Hunden, mit denen ich experimentierte.

Nachdruck verboten

Ueber die Schutzimpfung gegen Cholera.

Von N. Murata, Regierungsarzt.

Die Schutzimpfung gegen Cholera ist von Haffkine in Indien seit 1892 in großem Maßstabe durchgeführt. Haffkine verwendet dazu lebende Choleraabouillonkultur. Die Impfung selbst wird in 2 Sitzungen gemacht; nämlich zuerst wird eine abgeschwächte Kultur (weak virus) und dann nach einigen Tagen eine hochvirulente Kultur (virus fixe oder strong virus) eingepfht. Erst danach, im Jahre 1897, hat Kolle diese Schutzimpfung in wissenschaftlich exakter Weise studiert. Aus diesem Studium kam er zu dem Schluß, daß zur Schutzimpfung des Menschen abgetötete Agarkultur zu empfehlen sei, weil bei den sowohl mit der

1) Nuove ricerche sul modo in cui avviene l'infezione da Ankylostoma. (Rend. R. Acc. dei Lincei. Cl. fis. mat. e nat. Ser. 5^a. Vol. XII. fasc. 9^a. Seduta dall' 8 nov. 1903)

lebenden als auch mit der abgetöteten Kultur behandelten Tieren kein Unterschied zwischen dem erreichten Immunitätsgrad vorhanden war. Da trotzdem nur das Haffkinesische Verfahren immer noch in praxi angewendet wird, und nur die darauf bezüglichen Berichte erschienen sind, so muß mein Verfahren nach der Kolleschen Methode, von dem ich hier Mitteilung machen will, von gewissem Interesse sein.

Japan wurde schon oftmals von Choleraepidemien heimgesucht. Jedesmal wurde der Cholerakeim von Ausländern eingeschleppt. So hat das vorletzte Mal im Jahre 1896 eine große Epidemie in Japan geherrscht; seitdem war Japan mehrere Jahre lang ganz frei von Cholera geblieben. Aber wir mußten erwarten, daß wir ab und zu von Cholera bedroht würden, da der Schiffsverkehr zwischen Japan einerseits und Indien, der südlichen Küste Chinas, den Philippinen etc. andererseits immer reger wird. So wurde Japan im vorigen Jahre (1902) nochmals von Cholera heimgesucht. Diese Epidemie war so fürchterlich verheerend, daß fast ganz Süd- und Mitteljapan von ihr beherrscht wurde.

Im Regierungsbezirk Hiogo dauerte die Epidemie vom 31. Juli bis 23. Dezember 1902. Besonders wütend war sie von Mitte bis Ende September. Im ganzen betrug die Zahl der Erkrankten 1299, darunter die Todesfälle 902 (73,3 Proz.). In diesem Bezirk habe ich die Choleraschutzimpfung auf allgemeinen Wunsch der Einwohner durchgeführt. Die Impfung wurde vom 5. August an, also kurz nach dem Ausbrechen der Epidemie, vorgenommen. Das Impfvaccin, welches im kais. japan. Seruminstitut gemacht wurde, war folgendermaßen zubereitet: Eine 24-stündige Agarkultur wurde derart in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, daß 1,0 ccm davon 1 Oese Choleraabacillen (= 0,002 g) enthält. Diese Aufschwemmung wurde durch Erwärmen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° C abgetötet, und dann Karbolsäure (0,5 Proz.) zugesetzt. 1,0 ccm der Vaccine ist als Dosis für einen Erwachsenen bestimmt. In der folgenden Tabelle ist das Resultat der Schutzimpfung im Regierungsbezirk Hiogo zusammengefaßt:

Städte und Kreise	Ungeimpft			Geimpft		
	Bevölkerung	Cholera		Bevölkerung	Cholera	
		Fälle	Tod		Fälle	Tod
Stadt Kōbe	244 081	753	559	14 959	20	6
„ Himeji	28 695	15	15	2 596	0	0
Kreis Kawabe	66 205	88	61	8 142	7	5
„ Muko	80 775	62	48	2 440	0	0
„ Akashi	60 126	52	45	9 300	3	2
„ Kako	54 895	10	5	2 730	1	0
„ Innami	49 952	8	6	657	0	0
„ Shikama	90 588	48	35	3 100	2	2
„ Ibo	86 033	1	1	9 590	3	1
„ Higami	74 472	1	1	3 173	0	0
„ Tsuna	99 463	49	41	19 578	11	4
Summe	825 287	1 152	863	77 907	47	20
Prozentsatz		0,13 %*	75 %**		0,06 %*	42,5 %**

* Der Prozentsatz der Cholerafälle zur Bevölkerung (Morbidity).

** Der Prozentsatz der Todesfälle zu den Erkrankten (Mortality).

Wie die Tabelle zeigt, war das Zahlenverhältnis der Erkrankten zu den Geimpften nur 6:10 000, während das zu den Nichtgeimpften 13:

10 000 war. Die Mortalität unter den Geimpften betrug nur 42,5 Proz., während sie unter den Nichtgeimpften 75,0 Proz. ausmachte. Man muß natürlich solche statistischen Angaben sehr vorsichtig aufnehmen. Um einer optimistischen Betrachtung dieser Tabelle vorzubeugen, werde ich zur Beurteilung der Wirksamkeit der Impfung verschiedene Momente berücksichtigen. Ich kann aber nicht angeben, ob die Schutzimpfung gleichmäßig unter allen Ständen durchgeführt war, ob die Geimpften und Nichtgeimpften der Infektion gleichmäßig ausgesetzt waren. Auf solche Momente genau einzugehen, ist mir unmöglich, da die Impfung von mehreren Händen durchgeführt war. Wie dem auch sei, es ist nicht zu leugnen, daß die Mortalität unter den Geimpften weit geringer war, als die unter den Nichtgeimpften. Besonders sei hervorgehoben, daß die Erkrankung der Geimpften im allgemeinen bedeutend leichter verlief, als die der Nichtgeimpften. Betreffs der Behandlung der Kranken war natürlich zwischen beiden Fällen kein Unterschied; wir haben immer die subkutane Injektion einer großen Menge Kochsalzlösung empfohlen. Daß die Schutzimpfung aber ganz günstig gewirkt hat, habe ich in einzelnen Fällen erfahren, von denen ich mir hier einige Beispiele anzuzeigen erlaube. Solche Fälle kann man doch wohl nicht als zufällig ansehen.

1) In 2 Ortschaften, namens Akao und Sagoshi, welche dem Regierungsbezirk Okayama, wo die Choleraepidemie furchtbar wütete, nahe liegen und mit demselben in regem Verkehr stehen, wurden sämtliche Einwohner der Schutzimpfung unterzogen. Kein Cholerafall kam in diesen Ortschaften vor.

2) In der Filiale des Formosa-Camphormonopolamtes wurde die Schutzimpfung an der gesamten Mannschaft (159 Personen), ausgenommen nur 3 Personen, gemacht. Eine von letzteren erkrankte und starb, während sämtliche Geimpfte gesund blieben.

3) In einem beschränkten Lokal einer Stadt Sumoto wurde die Impfung an dem gesamten Personal (100) ausgeführt. Nur einer verweigerte sie; dieser allein erkrankte nachher an Cholera.

4) Die ganze Familie eines Beamten hatte die Impfung bekommen; nur seine Frau wollte es nicht und erkrankte leider nachher an Cholera.

Ich muß hier noch eine wichtige Bemerkung machen, nämlich, daß eine angegebene Dosis des Vaccins (1,0 ccm) sich oft als nicht ausreichend erwies, da Cholerafälle auch unter den Geimpften entstanden waren. Nachdem ich darauf aufmerksam geworden war, habe ich beschlossen, die Dosis auf das Zweifache (2,0 ccm) zu steigern. Das wurde seit Anfang September eingeführt, nämlich nach einem Monate des Beginnes der Epidemie. Diese gesteigerte Dosis hat sich nun als eine ausreichende gezeigt; die Impfung war nun absolut wirksam und kein einziger Erkrankungsfall unter den Geimpften kam vor. Alle Cholerafälle unter den Geimpften waren solche, die zur ersten Periode, wo 1,0 ccm Vaccins als eine maximale Dosis angewendet war, gehörten. Deshalb empfehle ich dringend, für die Cholerashutzimpfung wenigstens 2,0 ccm Vaccin (= 4 mg) als einmalige Dosis für einen Erwachsenen anzuwenden. Was nun die Reaktion der Impfung anbelangt, so war sie niemals von unangenehmen, gefährlichen Erscheinungen begleitet. Die Reaktionen waren ungefähr folgende:

1) Die Körpertemperatur zeigte meist 38,0° C oder sehr selten 39,0° C, eine Steigerung, welche aber nicht über 24 Stunden dauerte. Frostgefühl kam nur sehr selten vor. 2) Nach 5—6 Stunden der Impfung

machten sich an der Impfstelle spontane Schmerzen oder Druckschmerzen bemerkbar. Die lokale Anschwellung und Rötung war meist unbedeutend; wo sie vorkamen, verschwanden sie spätestens nach 3 Tagen. Seltener habe ich auch Urticaria beobachtet. 3) Nach der Impfung nahm die Urinmenge meist zu (ca. bei 20 Proz. aller Fälle); nach 12–16 Stunden kehrte sie zur Norm zurück. Bei wenigen Fällen (ca. 10 Proz. aller Fälle) traten am nächsten Tage der Impfung 1–2-malige Diarrhöen ein. 4) Bei Frauen kamen Uebelkeit und Erbrechen vor. 5) Von gewöhnlichen Erscheinungen wurde über allgemeine Mattigkeit, Unwohlsein und Kopfschmerzen geklagt.

Kōbe, Japan, 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber die hämolytische Wirkung des Loefflerschen Bacillus.

[Aus dem staatl. serotherapeut. Institute (Vorstand: Prof. R. Paltauf) und der k. k. Universitäts-Kinderklinik in Wien (Vorstand: Prof. Th. Escherich).]

Von Dr. Josef Schwoner.

Seitdem Ehrlich das Tetanolysin entdeckt hat, wurden für eine ganze Reihe von Bakterien Hämolysine gefunden; so das Staphylolysin, das Lysin des Typhusbacillus, das Colilysin, Pyocyanolysin, das Lysin des Fraenkelschen Diplococcus, des Micrococcus candidans und aurantiacus, der Streptokokken und das Vibriolysin.

Sachs schreibt: „Diese Bakterienhämolysine gehören in die Klasse der Toxine, werden dementsprechend durch Erhitzen auf 60° zerstört und rufen, in den tierischen Organismus eingeführt, die Bildung von spezifischen Antitoxinen hervor“.

Diese These gilt nun allerdings für das Tetano- und Staphylolysin, dagegen wird die hämolytische Kraft des Colilylins und des Pyocyanolysins selbst durch halbstündige Erhitzung auf 120° C nicht geschädigt — diese Hämolysine sind also hitzebeständig.

Wir wissen ferner, daß diese Lysine in das flüssige Nährmedium übergehen, daß sie auf verschiedene Blutarten nicht in gleichem Maße einwirken und daß normale Sera die verschiedensten Antily sine enthalten.

Was nun den Diphtheriebacillus anlangt, so finden wir in der Arbeit von Kraus und Clairmont die Versuche, Kaninchenblut durch Zusatz von Diphtherietoxin oder Diphtheriekultur zur Lösung zu bringen, als negativ bezeichnet.

Lub nau untersuchte 7 Diphtheriestämme, von denen 6 hämolytierten, wobei die Menge des überhaupt produzierten Hämolysins bei den einzelnen Stämmen variierte. Zu seinen Versuchen verwendete er als Nährboden eine Extraktbouillon, die nach Neisser und Wechsberg eine Alkalität $\frac{2}{6}$ besaß, d. h. es wurden nur $\frac{2}{6}$ derjenigen Menge von Natrium carbonicum zugesetzt, die nötig war, um die Bouillon bis zum Phenolphthaleinpunkt vollständig zu alkalisieren. Er beschickte die Röhren mit 5 ccm Bouillonkultur und setzte 1 Tropfen Kaninchenblut

aus einer auf 16 Tropfen geeichten Pipette zu. Das Hämolyierungsvermögen war bei sämtlichen Diphtheriestämmen in mehr oder minder hohem Grade schon am 1. Tage nachweisbar und erreichte das Maximum zwischen dem 3. und 11. Tage. Der 7. Diphtheriestamm hingegen, der sich durch negatives Verhalten gegenüber der Neisserschen Färbung, durch eine innerhalb 24 Stunden weit hinter dem Normalen zurückbleibende Säureproduktion kennzeichnete, und zwei aus der Conjectiva gewonnene Xerosestämmen hämolytierten nicht. Das Filtrat einzelner Stämme wurde von Lubenau ebenfalls auf das Hämolyierungsvermögen untersucht und die Resultate stimmten mit den Proben, die ohne Filtrieren der Bouillon angestellt waren, vollkommen überein. Ich muß gleich hier bemerken, daß einige bloß orientierende Versuche mit Filtraten keine Hämolyse zeigten.

Ich untersuchte nun etwa 70 Diphtheriestämme, die zum Teil von frischen Fällen aus der Diphtheriestation des St. Annen-Kinderspitals herrührten, zum Teil alte Kulturen des Institutes waren, und ging hierbei in folgender Weise vor.

Von jeder der in Verwendung genommenen Blutarten wurde eine 5-proz. Aufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung hergestellt, je 3 ccm derselben in die einzelnen Röhrchen verteilt und sodann die entsprechenden Quanta der zu untersuchenden Kulturen hinzugefügt. Dieses Gemisch wurde kräftig durchgeschüttelt, 2 Stunden hindurch in den Brutofen gestellt und nach weiterem 22-stündigen Belassen bei Zimmertemperatur das Versuchsergebnis aufgezeichnet.

Als Nährboden gebrauchte ich gewöhnliche Bouillon, nachdem ich mich davon überzeugt hatte, daß die von Neisser und Wechsberg für das Staphylolysin angegebene Bouillon das Hämolyierungsvermögen der Diphtheriebacillen nicht günstig beeinflusste. Von festen Kulturmedien gelangten im Verlaufe meiner Untersuchungen Loeffler-Serum und Agar zur Verwendung und werde ich mich hierüber weiter unten eingehender äußern.

Zuvörderst legte ich mir die Frage vor, ob alle Stämme überhaupt Hämolyse produzieren und ob diese Produktion in allen Fällen denselben Stärkegrad erreiche. Zu diesem Zwecke bediente ich mich vorerst ausschließlich Kaninchenblutes und ist bei den weiteren Versuchen, sobald nähere Angaben fehlen, immer nur von solchem die Rede. Die Antwort auf die oben präzisierete Frage ergeben folgende Versuche.

I. Versuch: Stamm 27⁰² (alte Institutskultur).

3 ccm Kb. ¹⁾	+ 2 ccm	48-stündige Bk. ²⁾	} nach 24 Stunden nirgends Spur von Hämolyse
3 "	" "	+ 1,5 " 48 " "	
3 "	" "	+ 1,0 " 48 " "	
3 "	" "	+ 0,5 " 48 " "	

II. Versuch: Stamm 59 (einer leichten Rachendiphtherie entstammend).

3 ccm Kb.	+ 2 ccm	48-stündige Bk.	} nach 24 Stunden nirgends Hämolyse
3 "	" "	+ 1,5 " 48 " "	
3 "	" "	+ 1,0 " 48 " "	
3 "	" "	+ 0,5 " 48 " "	

III. Versuch: Stamm Sdi IV (von einer septischen Diphtherie herrührend).

3 ccm Kb.	+ 2 ccm	48-stündige Bk.	komplette Hämolyse
3 "	" "	+ 1,5 " 48 " "	inkomplette Hämolyse
3 "	" "	+ 1,0 " 48 " "	starke Kuppe
3 "	" "	+ 0,5 " 48 " "	Kuppe

1) Kb. = Kaninchenblut.

2) Bk. = Bouillonkultur.

IV. Versuch: Stamm Sdi V (gleichfalls von einer septischen Diphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} komplette Hämolyse nach 24 Stunden
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	Kuppe
V. Versuch: Stamm Hickel (aus einer einfachen Rachendiphtherie gezüchtet).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	Kuppe
3	" " + 1,5	" 48 " "	Spur
3	" " + 1,0	" 48 " "	} negativ
3	" " + 0,5	" 48 " "	
VI. Versuch: Stamm Di XIV (einer einfachen Rachendiphtherie entstammend).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} nach 24 Stunden nirgends Hämolyse
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
VII. Versuch: Stamm Berner (von einer schweren septischen Rachen- und Nasendiphtherie herrührend).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	komplette Hämolyse
3	" " + 1,5	" 48 " "	incomplete Hämolyse
3	" " + 1,0	" 48 " "	} starke "Kuppe"
3	" " + 0,5	" 48 " "	
VIII. Versuch: Stamm 152 ⁰¹ (alte Laboratoriumskultur).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} nach 24 Stunden nirgends Hämolyse
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
IX. Versuch: Stamm XII (von einer einfachen Rachendiphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} nach 24 Stunden nirgends Hämolyse
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
X. Versuch: Stamm XLVIII (aus einer einfachen Rachendiphtherie kultiviert).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	Kuppe
3	" " + 1,5	" 48 " "	Spur
3	" " + 1,0	" 48 " "	} negativ
3	" " + 0,5	" 48 " "	
XI. Versuch: Stamm Lutz (von einer septischen Diphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} komplette Hämolyse nach 24 Stunden
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
3	" " + 0,1	" 48 " "	Kuppe
XII. Versuch: Stamm Krausdorfer (septische Diphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} komplette Hämolyse nach 24 Stunden
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
3	" " + 0,1	" 48 " "	Kuppe
XIII. Versuch: Stamm Schefzik (septische Diphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	komplett
3	" " + 1,5	" 48 " "	inkomplett
3	" " + 1,0	" 48 " "	starke Kuppe
3	" " + 0,5	" 48 " "	Kuppe
XIV. Versuch: Stamm Brudna (septische Diphtherie).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	} nach 24 Stunden
3	" " + 1,5	" 48 " "	
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	
3	" " + 0,1	" 48 " "	
XV. Versuch: Stamm St (von schwerem absteigenden Krup).			
3	ccm Kb. + 2	ccm 48-stündige Bk.	komplett
3	" " + 1,5	" 48 " "	} negativ
3	" " + 1,0	" 48 " "	
3	" " + 0,5	" 48 " "	

XVI. Versuch: Stamm 216⁹² (Laboratoriumskultur).

3 ccm Kb. + 2 ccm 48-stündige Bk.	} komplett } inkomplett } Kuppe } negativ	} nach 24 Stunden
3 " " + 1,5 " 48 " "		
3 " " + 1,0 " 48 " "		
3 " " + 0,5 " 48 " "		
3 " " + 0,1 " 48 " "		

Da der Begriff „septische Diphtherie“ in der Literatur nicht ganz einheitlich ist, will ich die Krankheitssymptome der zur Untersuchung gelangten Fälle mit einigen Worten skizzieren.

Sdi IV. Aufgenommen am 26. Okt. 1902.

5 Jahre altes Kind, kräftig, gut genährt, seit 3 Tagen krank. Haut blaß, bei der Aufnahme keine Hautblutungen, Submaxillardrüsen beiderseits diffus geschwellt, Nase stark serös-schleimig fließend, in der Tiefe dicke Membranen; Rachen gerötet, Tonsillen bis zur Berührung vergrößert, der ganze Rachen mit festhaftenden dicken, teils weißen, teils grauweißen, schmutzigen Membranen austapeziert, die Uvula mäßig ödematös, vollkommen eingekleidet von Membranen, Foetor ex ore, Stimme nasal. Ueber den Lungen vereinzelte Rasselgeräusche, Herzdämpfung in normalen Grenzen, Herztöne dumpf, Puls klein, regelmäßig (110).

28. Okt. Zunehmende Unruhe, Jaktation, Gesicht gedunsen, fahl, wachsartig, sichtbare Schleimhäute cyanotisch, Hautblutungen an den Oberschenkeln, über den Malleoli und am rechten Handrücken, Beläge im Rachen schmierig, in ihrer Ausdehnung unverändert, hochgradiger Foetor, Herzdämpfung nach links etwas verbreitert, Herztöne äußerst dumpf, zeitweise Pendelrhythmus, Puls an der Radialis kaum fühlbar. Exitus am selben Tage.

Sdi V. Aufgenommen am 25. Dez. 1902.

4 Jahre alt, seit 3 Tagen erkrankt. Hautfarbe grauweiß, keine Blutungen, Drüsen am Unterkiefer bis über erbsengroß geschwollen, nicht schmerzhaft, Nase stark eitrig fließend, Lippen trocken, rissig. Der Rachen ausgefüllt mit einer dicken, zusammenhängenden, grauweißen, festen Membran, die sich rechts bis zur Mitte des harten Gaumens nach vorn, links bis zum vorderen Teil der Tonsille erstreckt, die Uvula mit Membranen überzogen, Foetor ex ore. Wegen starker Einziehungen Intubation, Lungenbefund normal, Herzdämpfung nicht vergrößert, Herztöne rein, Puls 150, klein, von sehr geringer Spannung.

27. Dez. Wegen zunehmender Einziehungen und Hinfälligkeit Tracheotomie, starke Unruhe, Respiration dyspnoisch (40), Gesicht blaß, livid, Schleimhäute cyanotisch, keine Hautblutungen, Rachenbefund unverändert, über den Lungen vereinzeltes Rasseln, Puls ziemlich gut, Herztöne rein.

28. Dez. Starke Unruhe und Hinfälligkeit, Gesicht fahl, Beläge im Rachen annähernd in gleicher Ausdehnung, Herzdämpfung nach rechts etwas verbreitert, Töne dumpf, Pendelrhythmus angedeutet, im Harn Albumen.

29. Dez. Hinfälligkeit zugenommen, Gesicht hochgradig blaß, Beläge schmierig, über beiden Lungen krepitierendes Rasseln, Herztöne sehr leise, deutlicher Pendelrhythmus, Puls sehr klein, über dem rechten Knie, an der Innenseite des linken Oberarmes und an der Streckseite des rechten Unterarmes Hautblutungen, um 2 Uhr Exitus.

Stamm Berner. Aufgenommen am 8. April 1903.

2 Jahre alt, seit 5 Tagen krank. Haut blaß, Gesicht gelblich, am ganzen Körper zerstreut zahlreiche Hautblutungen, Temp. 38,2—38,6. Beiderseits am Unterkieferwinkel haselnußgroße Drüsen tastbar, daneben diffuse Schwellungen bis hinter die Ohren reichend, Nase blutend, serös-eitrig fließend, in beiden Nasengängen Membranen sichtbar, Lippen trocken, Rachen stark gerötet, geschwollen; auf beiden Tonsillen schmierige, gelblichgraue, membranöse Beläge, ebenso auf der Uvula, die hintere Rachenwand nicht sichtbar, die ganze Mundschleimhaut leicht blutend, sehr starker Foetor ex ore. Lungenbefund normal, Herzdämpfung in normalen Grenzen, Herztöne sehr leise, dumpf, Puls 68, von geringer Spannung, niedrige Pulsweite, arhythmisch. Im Harn bedeutende Mengen Eiweiß.

9. April. Häufiges Erbrechen, starke Hinfälligkeit, Gesicht fahl, wachsartig, Auftreten von Hautblutungen, Nase und Rachen unverändert, Herzdämpfung nicht vergrößert, Töne rein, Galopprhythmus, Puls sehr klein.

10. April. Exitus.

Stamm Lutz. Aufgenommen am 24. Febr. 1903.

4 Jahre alt, kräftig, gut genährt, seit 2 Tagen erkrankt. Haut schmutzig-braun, keine Hautblutungen sichtbar, zu beiden Seiten des Unterkiefers diffuse, ziemlich harte Schwellung, bis hinter die Ohren reichend, wobei die Drüsen nur unendlich zu isolieren sind. Die Nasenöffnungen exkoriert, die Nase serös-eitrig fließend, Rachen stark gerötet, Tonsillen bis zur Berührung geschwellt, Uvula ödematös. Beide Tonsillen mit

einem dicken, schmutzig-grauen, in der Mitte bröckligen Belag überzogen, welcher auf die anderen Gaumenbögen übergeht; hochgradiger Foetor, starke Salivation. Lungenbefund normal, Herzdämpfung nicht vergrößert, Töne rein, nicht gut klappend, Puls 136, klein, regelmäßig.

26. Febr. Nachts Unruhe, Schnarchen, Gesicht blaß, Rachen unverändert. Herzdämpfung nach links über die Mamillarlinie, nach rechts bis zur Mitte des Sternums reichend, Puls arhythmisch, 128, keine Hautblutungen.

28. Febr. Auftreten von Hautblutungen. Beläge im Rachen dünner, schmierig, im Harn Albumen.

1. März. Drüsenschwellungen und Foetor geringer, Puls regelmäßig, neue Hautblutungen.

Unter Rückgang sämtlicher Erscheinungen am 6. März geheilt entlassen.

Stamm Krausdorfer. Aufgenommen am 7. Febr. 1902.

Seit 5 Tagen krank, 7 Jahre alt, mager. Haut blaß, Oberhalsgegend beiderseits diffus geschwollen, infiltriert, Naseneingänge exkoriert, aus der Nase sehr starker, seröseitriger Ausfluß, Rachen stark gerötet und geschwellt, die bis zur Berührung geschwollenen Tonsillen mit dicken, grauweißen, festhaftenden Membranen überzogen, die auf den Gaumen übergehen. Uvula und hintere Rachenwand nicht sichtbar, hochgradiger Foetor. Herzdämpfung nicht verbreitert, Herztöne dumpf, rein, Puls 108, ziemlich kräftig, leicht arhythmisch. Im Harn 1 Prom. Albumen.

10. Febr. Beläge dünner, mißfarbig, sich in Fetzen abstoßend, Drüsenschwellungen zurückgegangen, Auftreten von Hautblutungen, Eßbach $\frac{1}{2}$ Prom.

12. Febr. In der Nacht starke Unruhe, Temp. 39.4. Gesicht verfallen, sehr blaß, Rachen abgeschwollen, Beläge dünn, schmierig. Herzdämpfung nach rechts den linken Sternalrand etwas überschreitend, Herztöne sehr dumpf, hochgradige Arrhythmie, Puls 108, klein, Albumen $\frac{1}{2}$ Prom.

Abends Exitus.

Stamm Schefzik. Aufgenommen am 1. Okt. 1902.

2 $\frac{1}{2}$ Jahre alt, seit 4 Tagen krank, etwas abgemagert. Gesicht wachsartig, blaß, Nase glänzend, einzelne Hautblutungen, Temp. 38.5. Zu beiden Seiten des Unterkiefers starke, schmerzhaft Drüsenschwellung und harte Infiltration. Die Nase blutig, serös fließend, in der Tiefe Membranen sichtbar. Rachen stark geschwollen, Tonsillen, Uvula und Gaumenbögen mit einem dicken, festen, grauweißen Belag überzogen, Zahnfleisch leicht blutend, hochgradiger Foetor. Herzdämpfung nicht vergrößert, Töne rein, Puls ziemlich kräftig, regelmäßig, 140, im Harn Albumen 2 Prom. E.

3. Okt. Foetor geringer, Rachen abgeschwollen, Beläge dünner, Drüsenschwellungen zurückgegangen, am Herzen Pendelrhythmus, Puls klein, im Harn reichlich Eiweiß, frische Hautblutung.

5. Okt. Gesicht blaß, gelblich, Foetor fast geschwunden, Beläge im Rachen im Rückgang, Herzdämpfung nach links verbreitert, Puls arhythmisch, frische Hautblutungen, im Harn Albumen und reichliche Cylinder.

7. Okt. Exitus.

Stamm Brudna. Aufgenommen am 21. April 1903.

6 Jahre alt, seit 3 Tagen krank, Gesicht blaß, keine Blutungen, Unterkieferdrüsengegend beiderseits stark vorgewölbt, schmerzhaft, aus der Nase schleimig-eitriger Ausfluß. Rachengebilde stark geschwellt, in allen Teilen graugrüne und gelbe Beläge sichtbar, starkes Schnarchen, Herzdämpfung nicht verbreitert, Herztöne rein, Puls regelmäßig, 100, im Harn Spuren Albumen.

24. April. Auftreten von Hautblutungen, Beläge im Rachen dünner, scharf begrenzt, Foetor geringer, Herztöne rein, dumpf, Puls klein, regelmäßig, im Harn große Mengen Eiweiß.

25. April. Frische Hautblutungen, Beläge abgenommen.

29. April. Stimme näselnd, öfteres Verschlucken, rechts hinten oben Pneumonie.

4. Mai. Dämpfung über der rechten Lunge vollkommen geschwunden, Herzdämpfung überschreitet den linken Sternalrand und reicht nach rechts bis 2 Querfinger über die Mamillarlinie, Töne rein, dumpf, Puls leicht arhythmisch, Eiweiß in Spuren.

12. Mai. Rachen rein, Gaumensegel beweglich, Allgemeinbefinden gut, Spitzenstoß im 6. Interkostalraum stark hehend, Herzgrenzen so wie am 4. Mai, am 23. Mai Herzdämpfung normal, Herztöne rein, Sehnenreflexe prompt, geheilt entlassen.

Außer den hier angeführten untersuchte ich noch ca. 30 von einfachen, unkomplizierten Rachendiphtherieen herrührende Stämme, die sämtlich bei einer den bisherigen Versuchen adäquaten Anordnung entweder gar nicht oder doch nur in geringem Maße (Kuppe oder Spur bei 2 ccm Bouillonkultur) hämolytierten.

Daraus ist zu ersehen, daß 1) nicht alle Stämme Hämolyisin produzieren; 2) hauptsächlich die von schweren septischen Diphtherieen herrührenden Kulturen hämolytisch wirken.

Da wir ja wissen, daß nicht sämtliche Blutarten von den Bakterienhämolyisinen in gleicher Weise gelöst werden, suchte ich nunmehr jene Blutspecies zu bestimmen, bei der die hämolytische Wirkung sich am deutlichsten zeigte.

	Verwendet wurde je 1 ccm 48-stündiger Bouillonkultur nachfolgender Stämme mit je 3 ccm					
	Kaninchenblut	Meerschweinchenblut	Ziegenblut	Hundeblut	Pferdeblut	Menschenblut
Stamm Sdi V	komplette Hämolyse	inkomplett	starke Kuppe	partiell	Spur	Spur
Stamm Berner	inkomplett	partiell	partiell	starke Kuppe	negativ	negativ
Stamm Lutz	komplett	komplett	ganz rot	inkomplett	Kuppe	Kuppe
Stamm Krausdorfer	"	inkomplett	Kuppe	partiell	Spur	Spur

Diese Zusammenstellung weist darauf hin, daß das Diphtherolysin auf Kaninchenerythrocyten am verderblichsten einwirkt, dem sich Meerschweinchen-, Hunde-, Ziegen-, Pferde- und Menschenblutkörperchen der Reihenfolge nach anschließen.

Sodann suchte ich den Zeitpunkt zu ermitteln, zu welchem die Hämolyisinproduktion ihren Höhepunkt erreichte, doch vermochte ich die hierbei gefundenen Resultate nicht mit den Angaben Lubenaus in Uebereinstimmung zu bringen. Um die oben gestellte Frage zu beantworten, impfte ich per Stamm je 10 Bouillonröhrchen, die ich nun an jedem einzelnen Tage auf ihre hämolytische Kraft untersuchte. Die Ergebnisse seien in nachfolgenden Tabellen vergegenwärtigt.

Stamm Sdi V

Bouillonkultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	fast komplett	fast komplett	Spur
48 " "	komplett	komplett	Kuppe
3 Tage alt	"	"	"
4 " "	"	in-komplett	"
5 " "	starke Kuppe	Kuppe	Spur
6 " "	Kuppe	Spur	∅
8 " "	"	∅	∅
9 " "	∅	∅	∅
10 " "	∅	∅	∅

Stamm Lutz

Bouillonkultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	in-komplett	in-komplett	Spur
48 " "	komplett	komplett	kompl. in-kompl.
3 Tage alt	"	"	"
4 " "	"	in-komplett	"
5 " "	in-komplett	Kuppe	Kuppe
6 " "	Kuppe	∅	∅
8 " "	∅	∅	∅
9 " "	∅	∅	∅
10 " "	∅	∅	∅

Kurz zusammengefaßt lassen sich diese Daten dahin präzisieren, daß das Maximum der Hämolyisinwirkung auf den 2. Tag fällt, von da ab dieselbe sich verringert, um vom 6., spätestens 8. Tage an gänzlich zu verschwinden.

Eine überaus interessante Tatsache ergab sich bei mehrmaliger Wiederholung dieser Versuche mit ein und demselben Stamm. Es zeigte

Stamm St.			
Bouillon- kultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	in- komplett	Kuppe	Spur
48 "	komplett	in- komplett	Kuppe
3 Tage alt	"	"	"
4 " "	Kuppe	Kuppe	Spur
5 " "	"	θ	θ
6 " "	Spur	θ	θ
8 " "	θ	θ	θ
9 " "	θ	θ	θ
10 " "	θ	θ	θ

Stamm Krausdorfer			
Bouillon- kultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	Kuppe komplett	Kuppe komplett	θ kompl. Kuppe
48 " "	"	"	Spur
3 Tage alt	"	"	"
4 " "	in- komplett	Kuppe	"
5 " "	θ	θ	θ
6 " "	θ	θ	θ
8 " "	θ	θ	θ
9 " "	θ	θ	θ
10 " "	θ	θ	θ

Stamm 122			
Bouillon- kultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	partiell komplett	Kuppe komplett	Kuppe partiell
48 " "	"	"	Kuppe
3 Tage alt	in- komplett	Kuppe	"
4 " "	Spur	θ	θ
5 " "	θ	θ	θ
6 " "	θ	θ	θ
8 " "	θ	θ	θ
9 " "	θ	θ	θ
10 " "	θ	θ	θ

Stamm Sdi IV			
Bouillon- kultur	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
24-stündig	Kuppe komplett	θ starke Kuppe	θ Kuppe
48 " "	"	Kuppe	"
3 Tage alt	"	Kuppe	"
4 " "	Spur	θ	θ
5 " "	θ	θ	θ
6 " "	θ	θ	θ
8 " "	θ	θ	θ
9 " "	θ	θ	θ
10 " "	θ	θ	θ

sich nämlich, daß das aus dem Organismus frisch gezüchtete Bakterium eine viel stärkere hämolytische Kraft besaß als das wochen- und monatelang auf künstlichen Nährböden kultivierte, ja, daß sogar ein Diphtheriebacillus, dessen Hämolysinproduktion durch Versuche bereits erwiesen war, diese Fähigkeit späterhin vollständig einbüßte (s. Tabelle p. 615).

Nach den Mitteilungen Besredkas über das Hämolysin der Streptokokken versuchte ich nun auch, durch Kultivierung in Bouillon unter Zusatz von normalem Kaninchen- resp. Pferdeserum die bereits verloren gegangene hämolytische Kraft der Diphtheriebacillen zu reaktivieren bzw. zu steigern.

Bezeichnung des Stammes	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. +								
	an 48-stündiger Bk. je			an 48-stünd. Bk. + Kaninchenserum je			an 48-stünd. Bk. + normalem Pferdeserum je		
	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
Sdi IV	Kuppe	Kuppe	θ	Kuppe	Kuppe	θ	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse	in- kompl.
Schefzik	"	"	θ	"	"	θ	"	"	"
381 ⁰⁰	"	θ	θ	"	Spur	θ	"	"	"
139 ⁰¹	inkompl. Kuppe	Kuppe	θ	"	θ	θ	"	"	"
Lutz	Kuppe	"	Spur	Spur	θ	θ	"	"	"

Diese Tabelle führt zu der Schlußfolgerung, daß es durch Züchtung der Diphtheriebacillen in Bouillon bei Zusatz von normalem Pferdeserum (und zwar je 2 ccm Pferdeserum auf 10 ccm Bouillon) gelingt, die Hämolysinbildung zu befördern, während Kaninchenserum diese Wirkung nicht besitzt. Zu bemerken wäre noch, daß bereits nach der ersten Passage diese Steigerung sichtbar ist und jetzt selbst bei Züchtung auf normaler Bouillon einige Zeit hindurch anhält.

		Verwendet wurden je 3 ccm Kb. + an 48-stündiger Bouillonkultur je										
		2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm		2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm		2 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
Stamm Sdi IV	ganz frisch gezüchtete Kultur	komplett	starke Kuppe	Kuppe	nach 3 Monaten	inkomplett	Kuppe	Kuppe	nach 6 Monaten	Kuppe	ϕ	ϕ
Stamm Sdi V		komplette Hämolyse	komplette Hämolyse	Kuppe		komplett	Kuppe	Kuppe		ϕ	ϕ	ϕ
Stamm St		komplett	inkomplett	Kuppe		komplett	Kuppe	ϕ		ϕ	ϕ	ϕ
Stamm 216 ⁹²	etwa 3 Wochen alte Laboratoriumskultur	komplett	inkomplett	Kuppe	inkomplett	Kuppe	ϕ	inkomplett	Kuppe	ϕ		

Eine weitere Frage, der ich mich nunmehr zuwandte, war die, ob das Hämolysin der Diphtheriebacillen in das flüssige Kulturmedium übergehe. Zu diesem Zwecke wurden 48-stündige Bouillonkulturen, teils rein, teils mit Pferdeserum versetzt, zur Anwendung gebracht, nachdem sie durch Reichel-Filter keimfrei gemacht worden waren. Die Resultate gebe ich in folgender Zusammenstellung wieder.

Bezeichnung des Stammes	Verwendet wurden 3 ccm Kb. + je 2 ccm			
	48-stündige Bk.	Filtrat dieser Kultur	48-stündige Bk. + Pferdeserum	Filtrat dieser Kultur
St	komplett	ϕ	komplett	ϕ
Brudna	"	ϕ	"	ϕ
216 ⁹²	inkomplett	ϕ	"	ϕ
Krausdorfer	komplett	ϕ	"	ϕ
Sdi IV	inkomplett	ϕ	"	ϕ

Daraus geht zur Evidenz hervor, daß das Filtrat der Diphtheriebacillen im Gegensatz zu den sonstigen Bakteriolytinen kein Hämolysin

besitzt, ein Verhalten, das nur Bulloch und Hunter für junge Kulturen von *Pyocyanus* beschreiben. Dieses Ergebnis legte mir die Vermutung nahe, das Diphtherolysin sei an die Bakterienzelle gebunden, weshalb ich nunmehr daran ging, Diphtheriebacillen auf festen Nährböden zu kultivieren, aufzuschwemmen und sodann auf Hämolysin zu prüfen. Hierbei verwendete ich Loeffler-Serum und schiefes Agar. Der nach 48 Stunden hierauf gewachsene Bakterienrasen wurde ösenweise und in einem bestimmten Quantum Bouillon verrieben, so zwar, daß 1 ccm der Aufschwemmung 2 Oesen der Kultur enthielt. Einen Ueberblick über die erzielten Ergebnisse liefert folgende Darstellung:

Bezeichnung des Stammes	Verwendet wurden je 3 ccm Kb. +					
	48-stündige Loeffler-Serumkultur je			48-stündige Agarkultur je		
	2 Oesen	1 Oese	1/2 Oese	2 Oesen	1 Oese	1/2 Oese
216 ⁰²	inkomplett	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Spur
381 ⁰⁰	komplett	komplett	"	inkomplett	"	Kuppe
Sdi IV	inkomplett	Kuppe	"	Kuppe	"	"
158 ⁰¹	komplett	komplett	komplett	inkomplett	Kuppe	Kuppe
Schefzik	"	inkomplett	inkomplett	"	"	"
St	"	komplett	komplett	komplett	"	"
Sdi V	"	"	"	Kuppe	"	"

Der Ausfall dieser Versuche hat mithin meine Vermutung bestätigt und zeigt überdies, daß der Grad der hämolytischen Kraft von der Menge der Bakterien abhängig ist und bei gleichen Quantitäten die auf Loeffler-Serum kultivierten Diphtheriebacillen stärkeres Hämolysin besaßen als die auf Agar gewachsenen.

Ein weiteres Hauptcharakteristikum der Hämolytine ist das Verhalten gegenüber thermischen Einflüssen und meine diesbezüglichen Untersuchungen mit ca. 25 Stämmen ergaben, daß durch halbstündiges Erhitzen auf 58° C das Hämolysin der Diphtheriebacillen vollständig zerstört wird.

Auf Antihämolysin gegenüber dem in Frage stehenden Lysin untersuchte ich normales, antitoxisches und agglutinierendes Pferdeserum und konnte einen bedeutenderen Unterschied zwischen denselben nicht finden. Die hierauf bezüglichen Versuche wurden in der Weise angestellt, daß die lösende Dosis, mit verschiedenen Quantitäten der Sera vermischt, durch je 2 Stunden im Brutofen verblieb und jedem Gemenge nachher 3 ccm Kaninchenblut zugesetzt wurden, während der weitere Verlauf sich mit dem bei den bisherigen Versuchen geübten Vorgange deckt.

Stamm Sdi IV				Stamm Sdi V			
Pferdeserum	3 ccm Kb. + 2 ccm 48-stündige Bk. nach 24 Stunden komplette Hämolyse. Obige Mischung + je			Pferdeserum	3 ccm Kb. + 2 ccm 48-stündige Bk. nach 24 Stunden komplette Hämolyse. Obige Mischung + je		
	1 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm		1 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm
normal I	partiell	inkompl.	komplett	normal IV	partiell	partiell	komplett
" VI	Kuppe	Kuppe	"	" VI	Kuppe	"	"
" IV	partiell	partiell	"	" III	"	inkompl.	"
" anti-toxisches agglutinierendes	⊕	Kuppe	fast komplett	" anti-toxisches agglutinierendes	Spur	Kuppe	partiell
	Kuppe	partiell	"		⊕	Spur	"

Stamm St				Stamm 216 ⁰²			
Pferdeserum	3 ccm Kb. + 2 ccm 48-stündige Bk. nach 24 Stunden komplette Hämolyse. Obige Mischung + je			Pferdeserum	3 ccm Kb. + 2 ccm 48-stündige Bk. nach 24 Stunden komplette Hämolyse. Obige Mischung + je		
	1 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm		1 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm
normal I	inkompl.	komplett	komplett	normal II	Kuppe	partiell	komplett
„ VI	Kuppe	inkompl.	„	„ III	inkompl.	inkompl.	inkompl.
„ IV	inkompl.	komplett	„	„ III	Spur	Kuppe	Kuppe
anti-toxisches	komplett	„	„	anti-toxisches	inkompl.	„	„
agglutinierendes	inkompl.	inkompl.	„	agglutinierendes	Spur	„	inkompl.

Aus diesen Daten erhellt, daß die die Hämolyse hemmende Eigenschaft der normalen Sera variiert und auch bei dem antitoxischen und agglutinierenden Diphtherieserum zu gering ist, um als ein Antihämolysin angesprochen werden zu können. Dieses Verhalten des agglutinierenden Diphtherieserums ist um so bemerkenswerter, als es mittels Immunisierung durch Bacillenleiber gewonnen wurde und andererseits das Diphtherolysin — nach meinen obigen Ausführungen — an der Bakterienzelle zu haften scheint. Durch Vorbehandlung mit lytisch wirkenden Stämmen versuchte ich nun, spezifische Antily sine zu gewinnen, jedoch bisher ohne Erfolg.

Diese Tatsache, daß es nicht möglich ist, ein Antily sin zu gewinnen, steht im Einklange mit der bereits angeführten Erscheinung, daß die hämolytische Wirkung auch nicht dem Kulturfiltrate zukommt — beide sprechen dagegen, daß hier ein Toxin vorliegt analog den bekannten hämolytischen Bakteriotoxinen; die toxinartige Natur der hämolytischen Substanz in den Kulturen der Loefflerschen Bacillen erscheint damit zweifelhaft und man muß derselben eine gesonderte Stellung gegenüber den anderen Bakterioly sinen einräumen.

Zuletzt beschäftigte mich die Frage, ob die sogenannten „Pseudodiphtheriebacillen“ Hämoly sine produzieren, eine Materie, die Lubenau in seiner Arbeit bereits gestreift hat. Ich war, da ich mich mit diesbezüglichen Untersuchungen befaßte, im Besitze von 12 biologisch und kulturell zum Teile ungleichwertigen Stämmen und kam zu dem Resultate, daß sämtliche Pseudodiphtheriestämme weder Kaninchenblut noch eine andere Blutart zu hämolysieren vermochten. Auch durch Züchtung in Bouillon bei Zusatz von Pferdeserum konnte keine Hämoly sinproduktion erzielt werden — ein neuer Beweis für die Verschiedenheit der Loefflerschen und Pseudodiphtheriebacillen.

Das von mir untersuchte Diphtherolysin hat demnach folgende Eigenschaften:

- 1) Es ist hauptsächlich bei Stämmen von klinisch schwer verlaufenden (septischen) Fällen zu finden.
- 2) Es wirkt besonders auf Kaninchenblutkörperchen lösend.
- 3) Erreicht sein Maximum in 48-stündiger Bouillonkultur.
- 4) Geht bei langdauernder Kultivierung auf künstlichen Nährböden verloren.
- 5) Filtrate des Diphtheriebacillus besitzen kein Hämoly sin.
- 6) Verschiedene normale Sera, antitoxisches und agglutinierendes Pferdeserum enthalten Antily sin in sehr geringen Mengen.
- 7) Durch halbstündiges Erhitzen auf 58° C wird das Lysin zerstört.
- 8) „Pseudodiphtheriebacillen“ besitzen kein Lysin.

Literatur.

- Lubenu, Hämolytische Fähigkeiten einzelner pathogener Schizomyceten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 356.)
 Weingeroff, L., Zur Kenntnis des Hämolysins des *Bacillus pyocyaneus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. p. 777.)
 Bulloch, W. u. Hunter, W., Ueber Pyocyanolysin. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. p. 865.)
 Lévy, E. u. Lévy, Prosper, Ueber das Hämolysin des Typhusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 403.)
 Kraus u. Clairmont, Ueber Hämolysine und Antihämolysine. (Wien. klin. Wochenschr. 1900. No. 3.)
 Neisser u. Wechsberg, Ueber das Staphylolysin. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI.)
 Kayser, H., Ueber das Colilysin. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII.)
 Sachs, Die Hämolysine und ihre Bedeutung für die Immunitätslehre. (Mit genauer Literaturangabe).

Nachdruck verboten.

Das Hämolysin des *Bacillus* der Hühnercholera.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität Turin,
geleitet von Prof. E. Perroncito.]

Von Dr. Dante Calamida.

Die von Ehrlich gemachte, dann von Madsen so gut studierte Entdeckung des Tetanolysins hat ein neues Untersuchungsgebiet geöffnet, und obwohl die Zahl der bekannten Bakterienhämolysine noch gering ist, haben wir dennoch durch sie den ersten Schritt zum Studium und zur Kenntnis der Bakterientoxine im engeren Sinne des Wortes gemacht.

Die Bakterienhämolysine haben nicht alle die nämlichen Charaktere, obwohl alle sehr unbeständig sind, sich rasch verändern und unter der Einwirkung der Wärme, des Lichtes, des Luftsauerstoffes zu Grunde gehen. Außerdem können wir von einem und demselben Mikroorganismus Hämolysine verschiedener Wirkungskraft, verschiedener Widerstandsfähigkeit, je nach der angewendeten Kulturmethode, bekommen.

Madsen wies für das Tetanolysin nach, daß es nicht gleich dem Tetanospasmin ist; in der Tat, wenn wir rote Blutkörperchen in Berührung mit einer nach einer gewissen Zeit filtrierten Tetanuskultur setzen, so finden wir in der obenaufsitzenden Flüssigkeit bloß das Tetanotoxin, da das Tetanolysin von den roten Blutkörperchen fixiert wurde.

Außer dem Tetanuslysin kennen wir das *Pyocyaneus*-Lysin, das *Streptococcus*-Lysin, das Typhuslysin, das *Coli*-Lysin, das *Staphylococcus*-Lysin, das *Pneumococcus*-Lysin.

Andere Mikroorganismen verbreiten, obwohl sie Hämolysin erzeugen, dasselbe nicht in die Umgebungsflüssigkeit, so daß man nicht mit filtrierten Kulturen arbeiten kann, und sie sind daher von viel geringerem Interesse.

Ein Mikroorganismus, von welchem wegen seiner Wirkungsweise im tierischen Körper zu vermuten war, daß er ein Hämolysin erzeuge, ist der *Bacillus* der Hühnercholera; soweit ich weiß, wurden aber bisher diesbezüglich keine Untersuchungen gemacht, und ich nahm mir vor, zu untersuchen, ob und unter welchen Bedingungen dieser interessante Mikroorganismus ein Hämolysin hervorruft.

Der von mir verwendete Bacillus wurde von einem Huhne während einer Hühnerseuche, welche in Piemonte herrschte, isoliert und durch aufeinanderfolgende Uebergänge im Kaninchen verstärkt, so daß 0,25 ccm der Kultur von 24 Stunden ein Kaninchen im Gewichte von ca. 1500 g binnen 16—18 Stunden tötete.

Für die Bereitung des Hämolysins wurden Kulturen in Bouillon von peptonisiertem Fleisch angewendet. Im Gegensatze zu dem, was für den Staphylococcus und den Bacillus coli gilt, ist der Grad der Alkaleszenz der Bouillon gleichgültig; auch in neutraler Bouillon findet die Erzeugung des Hämolysins statt, obwohl in geringerem Maße. Die Kulturen wurden bei 37° C gehalten und in verschiedenen Zeitperioden durch die Berkefeldsche Kerze durchfiltriert und dann wurden im Filtrate die hämolytischen Eigenschaften untersucht. Zu diesem Zwecke wurden zu 3 ccm physiologischer Lösung verschiedene Filtratsmengen und schließlich ein Tropfen defibrinierten Blutes von Kaninchen, Meerschweinchen oder Huhn hinzugesetzt; es wurde alles 2 Stunden lang bei 37° und dann bei Umgebungstemperatur gelassen. In Analogie zu dem, was für andere Mikroorganismen beobachtet wurde, verändert sich die Hämolysinmenge in den Kulturen je nach ihrem Alter, wie es sich aus der folgenden Tabelle ergibt.

Tabelle 1.

Menge der filtrierten Kultur	Nach 1 Tage		Nach 4 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 16 Tagen
	Nach 1 Tage	Nach 2 Tagen							
1,0 ccm	0	0	kaum Spuren	Spuren	mittelmäßig	voll- ständig desgl. sichtbar	vollständig	vollständig	mittelmäßig
0,50 "	0	0	0	"	Spuren	"	"	mittelmäßig	"
0,25 "	0	0	0	0	kaum sichtb.	sichtbar	"	"	Spuren
0,10 "	0	0	0	0	0	Spuren	"	Spuren	0
0,05 "	0	0	0	0	0	"	deutlich	0	0
0,01 "	0	0	0	0	0	0	mittelmäßig	0	0
0,005 "	0	0	0	0	0	0	"	0	0
0,001 "	0	0	0	0	0	0	Spuren	0	0

Es ergibt sich also, daß die Erzeugung des Hämolysins am 4. Tage anfängt, ihr Maximum am 12. Tage erreicht und dann abnimmt, bis dieselbe am 21. Tage vollständig verschwindet.

Das Blut, welches für die Zusammenstellung der ersten Tabelle diente, war difibriniertes Kaninchenblut.

Wie verhält sich nun das Hämolysin der Hühnercholera zum Blute des Meerschweinchens und des Huhnes?

Um dies festzustellen, wurde eine filtrierte Kultur von 12 Tagen ausgewählt, in welcher Zeit, wie wir wissen, die Hämolysinmenge am größten ist.

In der folgenden Tabelle sehen wir die Ergebnisse.

Es ergibt sich also, daß die filtrierten Kulturen des Bacillus der Hühnercholera in erster Linie hämolytische Wirkung auf die roten Blutkörperchen des Kaninchens, dann des Meerschweinchens und zuletzt des Huhnes ausüben. Es kann im ersten Augenblick seltsam scheinen, daß die Hämolyse für die roten Blutkörperchen des (refraktären) Meerschweinchens erheblicher ist als für diejenigen des Huhnes

Tabelle 2.

Menge des Hämolytins	Kaninchenblut	Meerschweinchenblut	Huhnblut
1,0 ccm	vollständig	vollständig	vollständig
0,50 "	"	"	"
0,25 "	"	"	mittelmäßig
0,10 "	"	mittelmäßig	Spuren
0,05 "	deutlich	"	"
0,01 "	mittelmäßig	Spuren	0
0,005 "	"	"	0
0,001 "	Spuren	0	0

(eines sehr empfindlichen Tieres). Aber das bestätigt die Erfahrungen, welche wir für andere Hämolytine haben, daß nämlich diese Substanz von der toxischen Kraft oder von der Virulenz der Kulturen unabhängig ist. In der Tat wissen wir z. B., daß der nach der Methode von Prof. Tizzoni kultivierte Tetanusbacillus, obwohl derselbe eine höhere toxische Kraft als jener anderer Kulturen aufweist, im Gegensatz dazu wenig oder gar kein Tetanuslysin erzeugt. Das Hämolytin des Bacillus der Hühnercholera wird durch Zusatz von Toluol oder Aether in kühler Umgebung lange Zeit hindurch aufbewahrt, ohne seine Wirksamkeit in erheblicher Weise zu verlieren. Es gehört nicht zu der Gruppe der wärmebeständigen Hämolytine, wie das *Pyocyanus*-Lysin, das Typhuslysin und das Coli-Lysin, es widersteht aber der Wärme mehr als andere Hämolytine, die *Streptococcus*-Lysine ausgenommen. In der Tat wird bei einer Einwirkung von 58° C durch 1/2 Stunde das Hämolytin der Hühnercholera in unerheblicher Weise abgeschwächt. Bei 65° C (1/2 Stunde lang) wird dasselbe schon deutlich abgeschwächt und bei 70° C 1/2 Stunde hindurch wird es vollkommen vernichtet.

Das unter die Haut der Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) injizierte Hämolytin der Hühnercholera ruft weder örtliche noch allgemeine Reaktionen hervor, wenn die Dosis auch erheblich ist.

Ich habe auch versucht, zu sehen, ob man aus dem Körper der in festem Nährboden (Agar) gezüchteten Bacillen ein Hämolytin extrahieren könnte, aber die sämtlichen mit Bacillenemulsionen in destilliertem Wasser, in physiologischer Kochsalzlösung mit oder ohne Zusatz von Chloroform oder Aethylendiamin, sei es bei der Umgebungstemperatur, sei es im Wasserbade bei 38—40° C, ausgeführten Versuche haben beständig negative Resultate geliefert.

Schließlich nahm ich mir vor, zu untersuchen, ob in Analogie zu dem, was z. B. für den *Staphylococcus* beobachtet worden ist, der Bacillus der Hühnercholera ein Leukocidin erzeugt oder nicht. Um Leukocyten zu sammeln, wurden 15—20 ccm von sterilisierter Emulsion von Aleuron (Merck) in die Pleurahöhle eines Kaninchens eingespritzt; nach 24 Stunden wurde das Exsudat gesammelt und in sterilisierte Röhren verteilt. Zu kleinen Mengen dieses Exsudates wurden in verschiedenen Verhältnissen die filtrierten, in derselben Weise wie für die Zubereitung des Hämolytins dargestellten Kulturen des Bacillus der Hühnercholera hinzugesetzt.

Sowohl bei der mikroskopischen Untersuchung, welche in verschiedenen Zeitperioden ausgeführt wurde, wie bei der biologischen Probe durch mäßig alkoholische Lösung von Methylenblau war es nie möglich, die geringsten Mengen von Leukocidin nachweisen zu können.

Schlüsse.

- 1) Aus den Bouillonkulturen des Bacillus der Hühnercholera kann man ein Hämolysin gewinnen.
 - 2) Das Maximum der Ausbeute erhält man am 12. Tage bei Aufenthalt im Ofen bei 37° C.
 - 3) Dieses Hämolysin ist, obwohl es nicht die Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen besitzt wie jenes des Pyocyaneus-, des Typhus-, des Coli-Bacillus etc., doch ziemlich widerstandsfähig, da dasselbe erst bei Einwirkung von 70° C $\frac{1}{2}$ Stunde hindurch vernichtet wird.
 - 4) Das Hämolysin der Hühnercholera hat keine toxische Wirkung auf die Tiere.
 - 5) Der Hämolyse geht keine Agglutination der roten Blutkörperchen voran.
 - 6) Die hämolytische Wirkung ist am erheblichsten für die roten Blutkörperchen des Kaninchens, dann für diejenigen des Meerschweinchens, und schließlich für diejenigen des Huhnes.
 - 7) In den Bouillonkulturen des Bacillus der Hühnercholera findet keine Erzeugung von Leukocidin statt.
- Turin, 8. Oktober 1903.

Bibliographie.

- Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1898.
Madsen, Zeitschr. f. Hyg. 1899.
Bulloch u. Hunter, Centralbl. f. Bakt. etc. 1900.
Kraus u. Clairmont, Wien. klin. Wochenschr. 1900.
Montella, Ann. Ig. Sper. 1901.
Besredka, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
Levy, E. u. Berg, O., Centralbl. f. Bakt. etc. 1901.
Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. 1902.
Pasquini, Ann. Ig. Sper. 1902.
Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1902.
Keiser, Zeitschr. f. Hyg. 1903.

Nachdruck verboten.

Bemerkung zum Artikel: Deutungsversuch der Eigenschaften und Wirkungsweise der Immunkörper von Prof. Dr. H. Zangger.

Von Dr. R. Sleeswijk, Alkmaar (Holland).

In der Nummer dieses Blattes vom 22. August 1903 wurde von Herrn Prof. H. Zangger eine Arbeit veröffentlicht, worin der Versuch gemacht wird, die Tatsachen bezüglich der Immunität einer „neuen“, nämlich einer „physikalischen“ Deutung zu unterziehen. Weil nun schon seit einigen Jahren auch meine Ansichten sich in dieser Richtung entwickelt haben, Ansichten, welche ich in meinem Buche: Der Kampf des tierischen „Organismus“ mit der pflanzlichen „Zelle“, 1902 (Sleeswijk-Amsterdam, Köhler-Leipzig), ausführlich dargelegt habe, so sei es mir gestattet, hiermit den hochgeschätzten Verfasser und den geehrten Leser auf diese Arbeit hinzuweisen.

Nachdruck verboten.

Gibt es latente Präzipitine?

[Aus der Breslauer Universitätsklinik für Hautkrankheiten (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Neisser).]

Von Dr. Franz Nagelschmidt, Assistent der Klinik.

Macht man Kaninchen Injektionen mit Menschenblut, so treten bekanntlich fast immer nach einiger Zeit im Serum dieser Kaninchen neben anderen Antikörpern Präzipitine auf. Jeder aber, der sich experimentell mit der Herstellung von Präzipitinen befaßt, hat auch mehr oder minder oft sehen müssen, daß das Serum mancher vorbehandelter Kaninchen, zum Menschenblut zugesetzt, keine Präzipitierung gab, obgleich die Vorbehandlung genau dieselbe war, wie bei anderen Kaninchen, deren Sera stark präzipitierten. Solche Beobachtungen sind verschiedentlich in der Literatur erwähnt; man betrachtete diese Erscheinung nicht als besonders auffallend und erklärte sie einfach damit, daß es von individuellen Verhältnissen abhängig sei, ob ein Tier leichter oder schneller als ein anderes mit der Abstoßung spezifischer Seitenketten auf die Immunisierung antworte, oder ob es überhaupt zu dieser Leistung unfähig sei.

Die übliche Erklärung, daß in einem solchen, durch spezifische Vorbehandlung erzeugten Serum überhaupt keine Präzipitine enthalten seien, kann theoretisch zutreffen; ob ein solches Verhalten möglich ist, will ich dahingestellt sein lassen. Daß das Fehlen von Präzipitinen aber nicht stets die Ursache zu sein braucht, lehrt folgende Beobachtung:

Ich habe gleichzeitig 4 Kaninchen mit gewaschenen menschlichen Blutkörperchen in genau gleicher Weise vorbehandelt. Die Kaninchen erhielten stets gleichzeitig folgende Injektionen von Blutkörperchenbrei:

am 27. April	10 ccm
„ 5. Mai	10 „
„ 11. „	10 „
„ 18. „	10 „
„ 23. „	10 „
„ 22. Juni	10 „
Entblutung am 17. Juli.	

Die Sera zeigten sich sämtlich stark hämolytisch. Mit der Bearbeitung gewisser Immunitätsfragen beschäftigt, verwandte ich diese, sowie eine Anzahl anderer, durch verschiedenartige Vorbehandlung gewonnener Sera in folgender Versuchsanordnung: Nach Entnahme eines kleinen Kontrollquantums, um die Fähigkeit der Präzipitierung zu konstatieren, versetzte ich den Rest des Serums mit defibriniertem Menschenblut. Die Menge des zugesetzten Blutes betrug 0,5 ccm auf je 1 ccm Serum. Nach 3—4-stündigem Aufenthalt im Brutschrank trennte ich durch Zentrifugieren das Serum von den zugesetzten Blutkörperchen und etwa aufgetretenen Niederschlägen. Das hierdurch erhaltene, stark gefärbte, klare Serum prüfte ich daraufhin, ob es in frisch hergestellten Blutlösungen auch noch Niederschläge zu erzeugen vermöge. Die Sera 1, 2 und 3 verursachten in den Kontrollversuchen, in denen 0,5 ccm des unveränderten Serums zu einer Lösung von 2 Tropfen frischen Blutes in 5 ccm Aqua dest. zugesetzt wurde, deutliche Präzipitierung; das

Serum 4 versagte in 3 Blutlösungen vollständig, in einer 4. entstand nur eine leichte Trübung.

Nach der allgemein herrschenden Annahme hätte man nun vermuten müssen, daß das Serum kein Präzipitin enthalte, und daß das Kaninchen 4 unfähig sei, entsprechende Seitenketten zu bilden und abzustoßen. An der Richtigkeit dieser Erklärung sind mir jedoch Zweifel aufgestiegen.

Der Rest dieser 4 Sera war, wie gesagt, mit defibriertem Blute versetzt worden und hatte im Brutschranke 4 Stunden lang gestanden. Das nunmehr abzentrifugierte, dunkelrote Serum zeigte folgendes Verhalten: Serum 1 und 2 präzipitierte ebenso stark wie vorher mit je 4 verschiedenen Blutlösungen. Serum 3 präzipitierte deutlich stärker als in der ursprünglichen Kontrollprobe. Dies ist schon ein auffallendes Verhalten. Das Ueberraschendste war aber, daß das Serum 4, das in unverändertem Zustande sich als ganz inaktiv gezeigt hatte, nunmehr ein reichliches, dickes Präzipitat lieferte. Ich prüfte es an 6 verschiedenen Blutlösungen und erhielt 5mal reichliche Präzipitierung, darunter auch mit Blut von demselben Patienten, mit dessen Blut die Kontrolle negativ ausgefallen war, während im 6. Falle mit einem anderen Blute auch jetzt keine Präzipitierung auftrat. Eine 3. Portion desselben Kaninchen-serums hatte ich mit defibriertem Blute eines anderen Patienten versetzt und nach 4 Stunden abzentrifugiert; ich erhielt aber hiermit ebenso wenig eine Präzipitierung wie mit dem unveränderten Serum in den Kontrollröhrchen.

Unter 7 durch Vorbehandlung gewonnenen Sera, die mir in der letzten Zeit zur Verfügung gestanden hatten, war das Serum 4 das einzige, welches sich als anscheinend unwirksam gezeigt hatte. Alle anderen gaben schon in unvermischem Zustande deutliche Präzipitierung.

Wie sollten wir die in oben geschilderter Versuchsanordnung auftretende Erscheinung der verstärkten Präzipitierung erklären? Das Natürlichste wäre die Annahme, daß das zur Vorbehandlung verwandte defibrierte Blut Isopräzipitine enthalten hätte. Meines Wissens ist über das Vorhandensein von Auto- oder Isopräzipitinen in menschlichen Seris bisher nichts bekannt. Ich habe daher einige diesbezügliche Versuche angestellt und folgende Resultate erhalten:

Ich arbeitete mit folgenden Flüssigkeiten:

A. Serum	I	Lues	II	Serum	VII	do.
"	II	do.		"	VIII	do.
"	III	do.		"	IX	Ekzem
"	IV	Bubo, nicht Lues		"	X	Lues II
"	V	Lichen ruber planus		"	XI	Ekzem
"	VI	Lues II		"	XII	Lues II
B.	2-proz. Lösung defibrierten Blutes, den Seris entsprechend.					
C.	2-proz. Lösung der entsprechenden gewaschenen Blutkörperchen.					

Es wurden zu je 5 ccm der Blutlösungen 0,25 ccm Serum zugesetzt.

Die Sera A I—V verursachten in den Lösungen B I—V nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank kein Präzipitat, während in sämtlichen Röhrchen, die mit Lösungen C der entsprechenden gewaschenen Blutkörperchen beschickt waren, in der gleichen Zeit eine ca. $\frac{1}{2}$ ccm hohe Kuppe sich gebildet hatte. Diese Kuppe ließ sich aufschütteln, wobei größere Flocken sichtbar wurden; indessen gelang es bei weiterem Schütteln verhältnismäßig leicht, die Flocken zu zerteilen,

so daß die ganze Lösung eine gleichmäßig trübe Beschaffenheit erhielt, in der mit bloßem Auge nur einzelne gröbere Partikelchen zu unterscheiden waren. Unter dem Mikroskop zeigte sich diese Trübung aus unregelmäßig geformten, glänzenden Flöckchen, etwa von halber Erythrocytengröße, bestehend; im Färbepreparate (nach Jenner) nahmen diese Flöckchen sehr schwach basische Färbung an und erschienen blaßgelb-grünlich oder bläulich. Dazwischen waren ganz vereinzelte Leukocyten wahrnehmbar. Nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank kamen die Gläschen in den Eisschrank, und hier war in den nächsten 15 Stunden in dem vorher klaren Röhrchen mit dem defibrinierten Blute dieselbe Trübung aufgetreten.

Es fragt sich nun, ob diese Niederschlagsbildung identisch ist mit den Präzipitierungen, die man mittels vorbehandelter Sera erhält. Dagegen spricht die leichte Zerteilbarkeit zu mikroskopisch kleinen Partikeln durch verhältnismäßig schwaches Schütteln. Indessen tritt doch offenbar anscheinend mit Regelmäßigkeit ein Niederschlag ein und es scheint mir daher die Annahme möglich, daß es vielleicht verschiedene Arten von Präzipitinen gibt. Läßt man Blutlösungen mit oder ohne Serumzusatz längere Zeit (d. h. 1—2 Tage) stehen, so bilden sich neben bakteriellen Trübungen fast regelmäßig Flocken, die sich zu Boden senken und daselbst als mehr oder weniger fest konglomerierte Kuppe sich ansammeln. Solche Niederschläge sind nicht als spezifisch anzusehen. Wir dürfen vielmehr nur dann von Präzipitinen sprechen, wenn ihr Auftreten innerhalb von 3—4 Stunden nach der Mischung (im Brutschrank) stattfindet. Spätere Niederschlagsbildung hat im allgemeinen keine spezifische Bedeutung.

Ebensowenig scheint es mir angängig, diese Niederschlagsbildung als Agglutination aufzufassen. Denn erstens wäre nicht einzusehen, warum die gewaschenen Blutkörperchen schneller und intensiver agglutiniert werden sollten als die ungewaschenen, weil die anhaftenden Serumspuren — nämlich höchstens 0,05 ccm in 5 ccm Blutlösung — eine zu geringfügige Menge darstellen, als daß sie gegenüber den 0,25 ccm zugesetzten Serums in Betracht kommen könnten. Die Differenz zwischen 0,25 und 0,3 ccm Serumgehalt in 5 ccm der zweiten Blutlösung in destilliertem Wasser kann auch keine bemerkbare Differenz in der Zeit ausmachen, die zu der Sedimentierung der Stromata notwendig ist. Das bedeutende Volumen der Kuppe spricht ebenfalls dagegen, den Niederschlag als agglutinierte Stromata aufzufassen. Vielmehr müssen wir ihn wohl als ein mäßiges Präzipitat betrachten, neben dem immerhin noch Agglutination aufgetreten sein kann.

Es zeigte sich also in den eben erwähnten Versuchen die merkwürdige Erscheinung, daß 5 Sera in den entsprechenden Lösungen defibrinierten Blutes innerhalb eines 2-stündigen Aufenthaltes im Brutschranke keine Präzipitierung hervorzurufen vermochten, während in den entsprechenden Röhrchen, welche die entsprechenden Blutkörperchenlösungen, also ohne das mitgelöste Serum, enthielten, in derselben Zeit ein starkes Präzipitat aufgetreten war. Es scheint demnach, daß die Sera sowohl Auto- als Isopräzipitine enthalten hatten, die mit Bestandteilen der Erythrocyten Koagulation hervorzurufen im stande waren. Daß in den defibrinierten Blutlösungen dieser Vorgang nicht oder erst verspätet eintrat, scheint auf dem einzigen erkennbaren Unterschied, nämlich der Anwesenheit der Serumspuren,

welche etwa 1 Proz. der Lösung betragen, zu beruhen, falls man nicht der Anwesenheit von Spuren von physiologischer Kochsalzlösung, die vom Auswaschen herrühren, einen Einfluß zuschreiben will. Irgend eine Erklärung für diese anscheinende Schutzwirkung des Serums zu geben, bin ich vorläufig nicht in der Lage.

Die Sera VI—XII besaßen auf defibrierte Blutlösungen, sowie solche gewaschener Blutkörperchen im gleichen Sinne, wie geschildert, verschieden starke, deutlich vorhandene Präzipitinwirkung, enthielten also sicher Auto- und Isopräzipitine.

Es scheint somit das Auftreten von gewissen Isopräzipitinen im frisch entnommenen Serum ein regelmäßiger Vorgang zu sein. Spricht diese Annahme dafür, daß das Auftreten von Präzipitierung in den mit dem vorbehandelten Kaninchenserum beschickten Röhrchen den Isopräzipitinen, die etwa in dem zur Vorbehandlung benutzten Blute enthalten waren, zuzuschreiben ist, so scheint diese Annahme noch eine Stütze zu erhalten durch die mitgeteilte Beobachtung, daß nur die mit dem einen Blute versetzte Serumportion Präzipitine zeigte, während bei der Behandlung mit einem anderen Blute keine Präzipitine auftraten. Man könnte nämlich annehmen, daß dieses zweite Serum zufällig keine Präzipitine enthalten habe. Indessen habe ich bisher noch kein Serum angetroffen, das nicht zum mindesten mit Lösungen gewaschener Blutkörperchen deutliches Präzipitat ergeben hätte, so daß die Erklärung der Präzipitinbildung nach Zusatz des einen Blutes als Wirkung von mitgesetzten Isopräzipitinen und des Ausbleibens im anderen Falle durch Abwesenheit von Isopräzipitinen durch die bisherigen Beobachtungen keine rechte Stütze erhält; denn, wie gesagt, habe ich noch kein nicht präzipitierendes Serum angetroffen und müßte die willkürliche Annahme machen, daß aus unbekanntem Gründen das eine Blutserum seine Wirkung zeige, das andere nicht.

Aber noch aus einem anderen Grunde scheint mir die Erklärung der verstärkten Präzipitierung als Folge zugesetzter Isopräzipitine nicht recht haltbar. Behandelt man ein nicht präzipitierendes Kaninchenserum durch Zusatz isopräzipitinhaltigen Blutes resp. Blutserums vor, so müßte man eine Präzipitinwirkung desselben erwarten dürfen. Das in Frage stehende Kaninchenserum IV war durch Entblutung des vorbehandelten Kaninchens gewonnen worden. Die Versuche damit wurden im Laufe der nächsten 2 Tage angestellt. 4 Wochen später zeigte der nicht weiter verarbeitete Rest des unvermischten Serums, der im Eisschranke aufbewahrt und einigermaßen in Fäulnis übergegangen war, mit den verschiedensten Blutlösungen keine Spur von Präzipitierung. Ich setzte nun zu den getrennten Portionen des Serums pro 1 ccm Serum je 0,5 ccm teils defibrierten Blutes, teils entsprechender gewaschener Blutkörperchen, teils 0,1 ccm der als isopräzipitinhaltig gefundenen entsprechenden Sera. Waren solche Zusätze geeignet, eine Präzipitinwirkung im Gemische zu zeigen, so müßte man erwarten, daß in den Gemischen, die Zusätze von Serum oder defibriertem Blut erhalten hatten, Präzipitierung hätte auftreten müssen, die in dem nur mit gewaschenem Blutkörperchenzusatz versehenen Teil sich nicht zeigen durfte. Dem war aber nicht so. Es trat in keinem einzigen Röhrchen ein Präzipitat auf, weder in Lösungen defibrierten Blutes noch in den entsprechenden von gewaschenen Blutkörperchen. Es geht mit vollkommener Deutlichkeit hieraus hervor, daß die gemachten Zusätze präzipitinhaltigen Serums zu dem Kaninchenserum nicht im stande waren,

eine Präzipitierung auszulösen, welche die Sera in der Menge von 0,25 ccm ohne Kaninchenserum in denselben Blutlösungen am selben Tage hervorriefen. Es scheint mir daraus hervorzugehen, daß das eine Blut, welches kurz nach der Entblutung des Kaninchens dem Kaninchenserum zugesetzt worden war, ganz besondere Eigenschaften gehabt haben mußte, um die außerordentlich intensive Präzipitierung hervorzurufen, die dieses durch spezifische Vorbehandlung gewonnene Serum in keinem einzigen Falle herbeiführen konnte.

Wie sollen wir nun aber die in anfangs geschilderter Versuchsanordnung auftretende Erscheinung der verstärkten Präzipitierung erklären?

Man könnte zunächst die Annahme machen, daß das Kaninchenserum 4 Präzipitine, und zwar sehr kräftige, enthalten habe, denn es gab nach der Vorbehandlung mit defibriniertem Blute einen reichlichen, dickflockigen Niederschlag. Daß nicht etwa die Blutlösung, zu der das Serum zugesetzt wurde, besondere Eigenschaften gehabt hatte, geht daraus hervor, daß Blut von demselben Patienten im einen Fall präzipitiert wurde, im anderen nicht. Dieser Unterschied kann also nur durch den Zusatz des defibrinierten Blutes erzeugt worden sein. Nun habe ich 2 verschiedene Blutzusätze zu 2 Portionen des Serums gemacht, und nur in der einen Portion ist präzipitierende Kraft sichtbar geworden; es muß also dieses eine Blut gewisse Eigenschaften gehabt haben. Es war durch Aderlaß frisch gewonnenes, durch Schlagen defibriniertes Blut, das unmittelbar nach der Gewinnung dem Serum zugesetzt wurde. Es stammte von einem Manne, der an einer frischen Gonorrhöe litt, aber im übrigen vollkommen gesund war. Daß dieses Blut durch Isopräzipitine die Niederschläge erzeugt habe, dagegen sprechen die mitgeteilten Betrachtungen. Wir möchten vielmehr annehmen, daß die präzipitierende Kraft im Serum in latenter Form vorhanden gewesen und erst durch den Blutzusatz frei geworden ist. Wie der nähere Mechanismus dieses Vorganges zu denken sein dürfte, darüber lassen sich einstweilen nur Vermutungen aufstellen. Es erinnert dieses merkwürdige Verhalten an eine analoge Erscheinung, nämlich an das Ausbleiben der Hämolyse in inaktivierten Seris und das Wiederauftreten nach Reaktivierung durch frische Komplementzufuhr. Es fragt sich nur, in welcher Weise die eventuelle Inaktivierung zu stande gekommen sein könnte, da das frisch entnommene Serum ohne irgend welche Vorbehandlung zugesetzt worden war. Da Erwärmen auf 56° C die Präzipitine nicht wie die Hämolyse schädigt, so müßte man sich zur experimentellen Klarstellung dieser Frage anderer Inaktivierungsmethoden bedienen. Es ist auch denkbar, daß durch bisher noch unbekanntes Bedingungen im Kaninchenkörper neben den Präzipitinen auch Antipräzipitine zur Bildung gelangen können. Alsdann wäre die Erklärung unserer Versuchsergebnisse in etwas anderer Weise zu geben. Wir müßten dann etwa annehmen, daß durch Zusatz geeigneten Blutes diese Antipräzipitine durch gewisse in diesem Blute vorhandene Stoffe aus ihrer Bindung gerissen und durch Kettung an diese inaktiviert worden wären. Dadurch sind dann unsere Präzipitine frei geworden und können nunmehr ungehindert auf dieselbe Blutlösung einwirken, mit der sie vorher nicht in Reaktion zu treten vermochten.

Es werfen sich zunächst also etwa folgende zwei Hauptfragen auf. 1) Sind Präzipitine komplex? Es ist möglich, daß bei der Präzipitierung die präzipitinogene Substanz des Serums an die präzipitino-

plastische der Blutlösung durch Zwischenkörper gebunden werden muß, die meistens schon im präzipitierenden Serum enthalten sind, wenn sie fehlen, aber durch Zusatz geeigneten frischen Blutes mitunter zugeführt werden können. 2) Gibt es Antipräzipitine? In diesem Falle könnte man daran denken, daß bei der Vorbehandlung von Tieren mit Blut im Serum Präzipitine auftreten; diese werden sofort von Stoffen, die vielleicht in dem zur Vorbehandlung selbst verwandten Blute enthalten sind, mit Hilfe eines Zwischenkörpers im Tierkörper selbst schon gebunden; sie können dann außerhalb des Körpers durch größere Avidität frischen entsprechenden Blutes zu diesen bindenden Stoffen wieder befreit werden und zur Wirksamkeit gelangen. Ueber alle diese sehr interessanten Fragen wissen wir jedoch heute noch nichts, und wir begnügen uns einstweilen mit der Wiedergabe der Beobachtung, daß ein anscheinend unwirksames, frisch entnommenes Serum doch starke präzipitierende Wirkung entfalten kann, die erst durch gewisse, noch nicht näher bestimmbare Stoffe, die sich im Blute eines anderen Menschen fanden, frei gemacht (resp. modifiziert) und zur Wirksamkeit gebracht werden konnten.

Ich teile diesen Befund einstweilen mit, weil ich in nächster Zeit keine Gelegenheit finden werde, weitere Beobachtungen über Präzipitine anzustellen. Vielleicht begegnet dem einen oder anderen Untersucher ein Fall, in dem trotz spezifischer Vorbehandlung Präzipitierung ausbleibt; eine genaue Analyse desselben in oben angedeutetem Sinne (unter Verwendung möglichst verschiedener Blutportionen zur Absorption) würde vielleicht Aufschlüsse über die Natur und Wirkungsweise der präzipitierenden Sera geben.

Nachdruck verboten.

Ergebnisse betreffend die Bedeutung der Milz- und Venenpunktion bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis.

[Mitteilung] aus der mediz. Klinik des Herrn Hofrat Prof. Dr. [S. Purjesz in Kolozsvár.]

Von **Nikolaus Jancsó**, Dozent.

I. In den letzten 4 Jahren wurde zur Diagnostik des Typhus abdominalis eine früher in weiteren Kreisen verbreitete, später beinahe in Vergessenheit geratene bakteriologische Hilfsmethode, nämlich die Züchtung der Typhusbacillen aus dem mittels Punktion der Milz entnommenen Blute, wieder aufgefrischt.

Trotz der günstigen Erfolge, die O. Chantemesse und Widal, Philipowitz, Lugatello, Redtenbacher und Neisser erreicht hatten, geriet diese Methode beinahe in Vergessenheit infolge der Bedenken, die E. Fränkel, C. Fränkel, Curschmann und andere hegten.

Diese Bedenken richteten sich einestheils darauf, ob durch Punktion der Milz immer so viel Milzsaft gewinnbar ist, wie zur Kultur der Typhusbacillen notwendig ist, zweitens wurden Bedenken wach, ob bis zur Sicherung der bakteriologischen Diagnose nicht so viel Zeit vergehe

daß während derselben schon aus den klinischen Symptomen die bestimmte Diagnose aufstellbar wäre. Drittens, und hauptsächlich, wurde erwogen, ob die leicht entstehende Blutung oder die mit dem Blute in den Peritonealraum gelangenden Typhusbacillen nicht solche Gefahren bilden, wegen welcher die Milzpunktion zu diesem Zwecke bloß in den seltensten Fällen oder überhaupt gar nicht zu gebrauchen wäre.

Bezüglich der ersten Frage zeigten die durch sämtliche Forscher erreichten Resultate, daß in den durch Punktion der Milz gewonnenen wenigen Tropfen Milzsaft in den meisten Fällen die Typhusbacillen aufzufinden sind. Der allgemeinen Ansicht widersprechen nur die Resultate Silvestrinis und Stagnittas. Mit dem Fortschritt der Bakteriologie wurde auch die zweite Frage zu Gunsten der Milzpunktion entschieden; überhaupt war, seitdem man die Gruber-Widalsche Serumreaktion zur Bestimmung der Identität der Typhuskultur zu gebrauchen anfang, auch die schnelle Entscheidung möglich.

Die dritte Einwendung besteht jedoch bis heutigen Tages, und zwar infolge des Ansehens von E. Fränkel und Curschmann, die sich über die Punktion der Milz mißbilligend aussprachen, selbe zur Sicherung der bakteriologischen Diagnose des Typhus als praktisch zu gebrauchende Methode für ganz wertlos erklärten, weil sie den Kranken direkt gefährdet.

Trotz alledem wurde die Frage in den letzten 4 Jahren wieder aufgefrischt, Biffi und Galli, namentlich aber Jakschs Klinik, empfehlen die Punktion der Milz zur Differentialdiagnose ebenso wie zur Frühdiagnose sehr warm.

Mit den durch Kraus und Hayashiakawa von Jakschs Klinik mitgeteilten Fällen zusammen konnte Adler in dem *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* Jahrg. 1903 über den Erfolg von 300 Milzpunktionsfällen berichten, welche sich über die Hälfte auf Typhusranke beziehen; in 95 Proz. der Fälle war der Erfolg positiv, und in 90 Proz. wieder gelang die Aufstellung der Frühdiagnose auf Grund der Milzpunktion. In so zahlreichen Fällen wurden nie die geringsten unangenehmen Symptome beobachtet, man hat sogar zu bemerken geglaubt, daß die Milzpunktion suggestiv wirkt. Adler beruft sich weiterhin darauf, daß, den Fall Hädke ausgenommen, in der Literatur kein Fall mitgeteilt ist, in dem die Punktion der Milz Gefahr verursacht hätte. Er glaubt, daß der Grund der eventuellen unangenehmen Symptome und der Blutung darin liegt, daß die Punktion nicht mit der erforderlichen Technik ausgeführt wurde, oder das die Aspiration zur Gewinnung einer größeren Menge Saftes forciert wurde.

Infolgedessen empfiehlt Adler bei Typhusfällen die Punktion der Milz als völlig gefahrloses diagnostisches Hilfsmittel, nur sind nicht dicke Nadeln zu gebrauchen, die Aspiration soll nicht forciert werden, und soll die Nachbehandlung, nämlich absolute Ruhe während 24 Stunden und ein Eisbeutel auf die Milzgend, pünktlich eingehalten werden. Nur bei Hämophilie, hämorrhagischer Diathese, hohem Alter und bei lange dauernden schweren Fällen hält er sie für kontraindiziert, weil hier die parenchymatöse Degeneration der inneren Organe voraussetzbar ist.

Neuerdings verrichtet man die Milzpunktion auch bei Kindern in Typhusfällen, und da man mit den Erfolgen vollständig zufrieden war, hält man die Punktion zur Sicherung der Diagnose des Typhus abdominalis für ein auch bei Kindern ausführbares diagnostisches Vorgehen.

Um die Frage von mehreren Seiten zu beleuchten, wünschen wir auch unsere Beobachtungen, die wir bei Typhusfällen ausgeführten Milzpunktionen gesammelt haben, mitzuteilen.

Bei Malariakranken haben wir schon früher Milzpunktionen zu diagnostischen und anderen Zwecken vorgenommen, und wurden von uns nach diesem Eingriffe nie unangenehme Symptome bemerkt.

Auch bei Typhusfällen gebrauchten wir eine 5 ccm fassende Spritze, die mit einem Asbestpfropfen und einer nicht allzudünnen, 5 cm langen Nadel versehen war. Diese Spritze machten wir durch 15 Minuten langes Kochen aseptisch. Ganz feine Nadeln sind zur Milzpunktion nicht so geeignet, da der Milzsaft außerordentlich schnell gerinnt, und so schwer aspirierbar ist. Die Punktion der Milz verrichteten wir folgendermaßen: Den Kranken legten wir auf die rechte Seite und umzeichneten die Milzdämpfung. Hierauf wurde die Milzgegend erst mit Seife, dann mit Sublimat gewaschen, diese Fläche desinfizierten wir nun mit Alkohol und Aether. Die Haut in der Mitte der umzeichneten Fläche machten wir mittels Chloräthyl unempfindlich, dann stachen wir, nachdem wir den Kranken aufgefordert, einige Augenblicke nicht zu atmen, hinein. Jetzt zogen wir die Nadel ein wenig zurück, daß wir für den Milzsaft sozusagen einen Sammelkanal bildeten, und aus diesem wurde mit möglichster Sorgfalt aspiriert. Hierauf wurde die Nadel entfernt, die Wunde mit Heftpflaster bedeckt und auf die Milzgegend ein Eisbeutel gelegt, und dem Kranken empfohlen, sich solange als möglich nicht zu rühren.

Die Menge des auf diese Art gewinnbaren Milzsaftes ist verschieden, manchmal kommen kaum einige Tropfen, ein andermal leicht auch 1 ccm; bei Fällen, wo die Milz groß und weich ist, kann man leicht auch noch mehr Milzsaft gewinnen.

Aus der Beschreibung unseres Vorgehens ist es schon ersichtlich, daß die Punktion bei unruhigen, im Delirium sich befindlichen Kranken nicht auszuführen ist; wir wenigstens getrauten uns dies bei solchen Kranken nicht, wegen der Besorgnis, daß ihre Unruhe die Blutung steigern könnte. Aus eben diesem Grunde führten wir die Punktion auch bei Kindern nicht aus.

Die durch Punktion der Milz gewonnene Flüssigkeit entleerten wir rasch aus der Spitze in lauwarmer Bouillon, diese vermischten wir mit geschmolzenem und auf 40° C abgekühltem Agar und gossen dies in Petri-Schalen zu Platten. Andererseits gaben wir 1—2 Tropfen des Milzsaftes in ein 15 ccm Bouillon enthaltendes Reagenzglas und stellten dies, sowie die vorigen Platten, bei 37° C in den Thermostaten.

Die Bouillon, in die wir einen Tropfen des Milzsaftes gaben, war in den meisten Fällen, wo im Milzsaft Typhusbacillen enthalten waren, nach 18 Stunden trübe geworden. Auf den Agarplatten wurden gewöhnlich erst nach 48 Stunden Typhuskolonien sichtbar. Die weiteren Untersuchungen verrichteten wir auf folgende Weise: Die Bouillonkulturen beobachteten wir erst im hängenden Tropfen, und wenn darin lebhaft sich bewegende typhusverdächtige Bacillen sichtbar wurden, dann verrichteten wir mit einem bekannten, auch in mehrtausendfacher Verdünnung deutlich agglutinierendem, von Typhuskranken stammendem Blutserum im Verhältnis 1:100 die Widalsche Reaktion im hängenden Tropfen.

Wenn die Widalsche Reaktion sofort positiv ausfiel, gossen wir aus der Bouillonkultur Gelatineplatten, und aus den aus diesen sich entwickelnden Kulturen entnahmen wir die verdächtigen zur weiteren Untersuchung.

Seite	Name	Tag der Punktion	Blutmeng.	Widal 1:50	Bouillon-kultur	Zahl der Agarplatten	Zahl der Kulturen auf einer Agarplatte	Resultat der Punktion	Dekursus
1.	K. J.	6. (?), 13.	1	+	+	6, 6	einige	+	Mittelschwerer Fall, am 24. Tage Defervescenz.
2.	M. L.	8. (?)	1	+	—	4	10—20	+	Mittelschwerer Typhus, Defervescenz am 30. Tage. Am 8. Tage entwickeln sich Typhusbacillen aus dem Urin.
3.	M. G.	9.	1	+	+	5	einige	+	Schwerer Fall. Nach mehrfachen schweren Rezidiven Entfieberung am 85. Tage.
4.	U. Za.	10.	Einige Tropfen	+	+	6	einige	+	Mittelschwerer Fall. Defervescenz am 46. Tage.
5.	B. M.	10.	1	+	+	5	einige	+	Leichter Fall, wo die Defervescenz nach einigen Tagen schon beginnt.
6.	R. Za.	11.	1	+	+	5	einige	+	Am 28. Tage fieberfrei. Am 29. Tage beginnt schweres Rezidiv, demselben erliegen ¹⁾ .
7.	T. M.	11.	1	+	+	5	einige	+	Mittelschwerer Typhus renalis. Am 40. Tage Entfieberung. Aus dem Urin entwickeln sich zwischen dem 11.—43. Tage mehrmals Typhusbac.
8.	K. J.	11.	1	+	+	3	einige	+	Schwerer Fall. Am 21. Tage tritt Pneum. croup. auf. Heilung.
9.	G. V.	14.	1	+	+	4	—	—	Leichter Fall, wird am 21. Tage fieberfrei.
10.	B. F.	15.	1	+	+	5	50—70	+	Sehr schwerer Fall, mit sehr hohem Fieber. Am 33. Tage Entfieberung.
11.	Gy. P.	15.	1	+	+	4	40—60	+	Mittelschwerer Fall, am 40. Tage fieberfrei.
12.	K. S.	16.	1	+	+	6	8—10	+	Mittelschwerer Typhus. Entfieberung am 22. Tage.
13.	B. Za.	16.	1	+	+	7	2—3	+	Leichter Fall, schon im Defervescenz aufgenommen. Am 22. Tage fieberfrei.
14.	M. M.	18.	1	—	+	5	100	+	Schwerer Colotyphus, am nächsten Tage tritt Pneumon. croup. auf. Tod am 21. Tage ²⁾ .
15.	Ca. J.	18.	1	+	+	5	100	+	Septikämische Form. Colotyphus. Exitus nach 5 Tagen ³⁾ .
16.	Sx. Gy.	20.	1	+	+	5	einige	+	Schwerer Verlauf. Stirbt nach 20 Tagen wegen Perichondritis laryng. ⁴⁾ .
17.	H. P.	23.	1	+	+	8	4—6	+	Nach 4 Tagen Darmblutung, nach 9 Tagen Darmperforation ⁵⁾ .

Milzpunktionen bei gut ausgebildeten Typhusfällen.

1) Sectio: Typhus abdominalis.
 2) Sectio: Typhus in stad. infiltratonis cum necrosi et ulceratione intest. ilei et coli ascendent.
 3) Sectio: Typhus in stad. partim infiltrat. part. necros. ilei et coli.
 4) Sectio: Typhus in stad. cicatrizationis.
 5) Sectio: Typhus in stad. ulcerationis intest. ilei et coli; parotitis purulenta; peritonitis perforativa.

Milzpunktionen bei gut ausgebildeten Typhusfällen.

18.	D. J.	28.	1 Tropfen	+	+			Es kam nur 1 Tropfen Blut. Sehr schwerer Colotyphus, stirbt noch an diesem Tage ¹⁾ .
19.	P. P.	?	1	+	+	4	20-30	Mittelschwerer Typhus am Ende der Defervescenz.
20.	Sz. M.	30.	1	+	+	4	2-3	Mittelschwerer Typhus in stad. amphibol. Nach 10 Tagen fieberfrei. Aus dem Urin und Rosolen entwickelten sich Typhusbacillen.
21.	Cs. J.	35.	1	+	-	8	-	Gut ausgeprägter Typhusfall, die Entfieberung hat schon begonnen; Recrudescenti tritt ein und wird nur am 48. Tage fieberfrei.

Milzpunktionen bei Fällen von Typhus levis.

22.	M. A.	8.	1	-	-	5	-	Am 28. Tage fieberfrei, Rezidiv tritt ein.
23.	B. M.	8.	1	-	-	6	-	Entfieberung schon am 11. Tage.
24.	Ny. Gy.	15.	1	-	-	7	-	Entfieberung am 19. Tage.

Milzpunktionen bei zweifelhaften und typhusverdächtigen Fällen.

25.	B. M.	6.	1	-	-	5	4-5	Zeigt sich als mittelschwerer Typhus. Entfieberung am 31. Tage.
26.	Sch. V.	7.	1	-	-	4	0-3	Mittelschwerer Typhus. Entfieberung am 25. Tage.
27.	M. K.	8.	1	-	-	5	-	Mittelschwerer Typhus. Am 31. Tage tritt Darmblutung auf. Entfieberung am 25. Tage.
28.	R. F.	12.	1	-	+	5	3-4	Leichter Typhus. Entfieberung am 31. Tage.
29.	K. B.	13.	1	-	+	4	einige	Mittelschwerer Typhus, Defervescenz am 31. Tage.
30.	T. F.	21.	1	-	-	4	-	Abgelaufener Typhus, später tritt ein Rezidiv auf.
31.	H. J.	45.	1	-	+	4	8-10	Typhus kombiniert mit Tuberculosis pulmonum. Exitus ²⁾ .
32.	D. A.	7.	1	-	-	6	-	Pneumonia centralis. Heilt.
33.	A. R.	9.	1	-	-	4	-	Endocarditis acuta. Heilt.
34.	M. J.	7.	1	-	-	5	-	Influenza. Heilt.
35.	K. F.	6.	1	-	-	5	-	Pneumonia crouposa. Heilt.
36.	S. J.	5.	1	-	-	4	-	Pyæmia occulta. Exitus.

1) Sectio: Colotyphus in stad. part. infiltrationis, partim necrosi. Ileotyphus in stad. praeceipue infiltrationis.
 2) Sectio: Typhus in stad. partim consanationis, partim ulcerat. Tuberculosis chronica in apicibus pulmonum.

Aus den auf den Agarplatten sich bildenden typhusverdächtigen Kolonien entnahmen wir auch einige, und setzten sie ebenfalls erst in Bouillon, führten mit der sich nach 18 Stunden trübenden Bouillon die Widalsche Reaktion ebenfalls mit der vorigen Blutserumverdünnung 1:100 im hängenden Tropfen aus, um jene, die in einigen Minuten eine unzweideutige Reaktion zeigten, weiteren Untersuchungen zu unterwerfen. Bei diesen weiteren Untersuchungen machten wir Proben über das Verhalten der Kulturen im hängenden Tropfen, in Gelatineplattenkultur, in Gelatinstichkulturen, in Traubenzuckeragarstichkulturen, ferner prüften wir das Verhalten in Milch, Erdäpfelkultur, ebenso auch die Indolreaktion. Und nur wenn sämtliche kulturellen Eigenschaften auf Typhusbacillen hinwiesen, nahmen wir an, daß die betreffende Kultur wirklich eine Typhusbacillenkultur ist.

Wir wollen jedoch bemerken, daß ohne Ausnahme in jedem Falle, wo bei der ersten Prüfung in dem aus Bouillonkultur genommenen hängenden Tropfen sich lebhaft bewegende Bacillen sichtbar waren, und diese mit unserem mehrtausendfach agglutinierenden Typhusserum in 1:100 Verdünnung die Widalsche Probe sofort prompt geben, die weiteren kulturellen Eigenschaften immer für Typhusbacillen sprechend ausfielen.

Wir führten die Punktion bei 21 solchen Fällen aus, in denen die Diagnose bereits außer allem Zweifel war; außer diesen bei 3 Fällen von Typhus levis und bei 12 solchen Fällen, wo zur Zeit der Punktion die Diagnose noch zweifelhaft war; von letzteren erwiesen sich später 7 Fälle als Typhus.

Wie ersichtlich, haben wir bei 36 Personen 37mal Milzpunktionen ausgeführt; unter diesen litten 31 an Typhus.

Von jenen 21 Fällen, wo der Typus mittelschwer oder schwer war, konnten wir in 19 Fällen durch die Milzpunktion die Typhusbacillen kulturell darstellen.

Diese Fälle waren zwischen den 6.—35. Tagen, also gegen Ende der ersten Woche, doch vor dem Zeitabschnitte der Deferveszenz. Bei einigen hatte die Deferveszenz wohl bereits begonnen, war sogar schon vorgeschritten, und dennoch waren die Bacillen im Milzsaft zu finden. In jenen 7 Fällen, wo die Punktion erfolglos war, hatte die Deferveszenz bereits begonnen. Aus all diesem ist ersichtlich, daß in gut ausgeprägten Typhusfällen die Typhusbacillen vom Ende der ersten Woche bis zum vorgeschrittenen Zeitabschnitte des Stad. decrementi in dem durch Punktion gewonnenen Milzsaft fast immer aufzufinden sind.

Uns interessieren natürlich eher die Resultate jener Milzpunktionen, die wir teils bei Typhus levis ausgeführt hatten, also bei solchen Fällen, wo die klinischen Krankheitssymptome so sehr unbestimmt waren, daß aus diesen die Diagnose des Typhus bestimmt aufzustellen nicht möglich war; ebenso die in denjenigen Fällen ausgeführten Punktionen, wo die Erkrankung erst im Beginn war und demnach die klinischen Symptome keine richtige Deutung zuließen; und endlich sind von besonderem Interesse jene Fälle, wo aus ein oder dem anderen Grunde die Diagnose zweifelhaft war und wo gerade die Milzpunktion berufen war, die Diagnose zu sichern.

Bei 2 Fällen von Typhus levis gelang es uns nicht, durch Punktion der Milz die Diagnose des Typhus festzustellen, da in dem Milzsaft keine Typhusbacillen zu finden waren. In zweien dieser Fälle hatten

wir es bestimmt mit Typhus zu tun, da Rezidive mit dem ganz typischen Fiebergang erfolgten. Bei Typhus levis scheint es daher, daß uns auch die Punktion der Milz im Stiche läßt, wie denn auch bei diesen Fällen bisher jeder diagnostische Vorgang fehl schlug; neben pünktlichem Temperaturmessen kommt bei diesen Fällen der richtigen Diagnose die Widalsche Reaktion am meisten zu Hilfe.

Von den zweifelhaften Fällen waren 3 bei der Aufnahme noch so im Anfange der Krankheit, daß aus den Symptomen die Diagnose nicht gestellt werden konnte. Von diesen gab die Punktion der Milz bei zweien positive Resultate, bei einem war das Resultat negativ. Bei letzteren zeigte sich nach 5 Tagen Darmblutung, und aus diesem, wie aus dem ganzen Verlauf war die Diagnose bestimmt anzunehmen.

Bei folgenden 2 Fällen, 28, R. F. und 29, H. B., bei denen die Temperatur große Schwankungen zeigte, und auch andere, auf Typhus deutende Symptome ganz fehlten, auch die Widalsche Reaktion negativ war, kam uns der positive Erfolg der Milzpunktion bei der Diagnose sehr zu statten.

30, F. F., war vor seiner Aufnahme außerhalb der Klinik schon 3 Wochen hindurch krank. Am ersten Abend der Aufnahme war das Fieber 40,4°, am Morgen fällt die Temperatur auf 37,5° und hält sich 3 Wochen lang auf dieser niedrigen Stufe, was leicht durch eine inzwischen aufgetretene Fautitis und später durch eine Urticaria zu erklären gewesen wäre, wenn nicht später ein durch den Fieberverlauf ganz charakteristisches Rezidiv den wahren Sachverhalt dargetan hätte. Infolgedessen können wir sagen, daß der Typhus schon außerhalb des Krankenhauses abgelaufen war, und die Punktion der Milz auf die durch die Fautitis und anderes gestörte Zeit der Rekonvaleszenz fiel.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Centrifugalisation and disintegration in relation to the virus of Rabies.

By **J. O. Wakelin Barratt, M. D., B. Sc., Lond.,**

Research Student in Bacteriology, Lister Institute of Preventive Medicine, London.

With 1 figure.

The following work forms part of a study of rabies undertaken in the hope of gaining further knowledge of the nature of the virus of this disease. In the present paper the virus is considered with special reference to its relation to centrifugalisation and to disintegration.

The effect of centrifugalisation upon the virus of rabies.

When an emulsion of the central nervous system is centrifugalised all gross particles are speedily removed, while all finer particles remain suspended for a longer time. In this way a differentiation of the solid part of the emulsion is effected, which enables the examination of rabid brain substance to be made under new conditions, and thus opens up a fresh line of investigation.

The only references bearing upon the effect of centrifugalisation, which I have been able to find in the literature of rabies, are the

statement of Bareggi¹⁾ that, when subsidence has taken place, the upper layer of an emulsion of rabid central nervous system fails to convey rabies, and the observation of E. Franzius²⁾ that centrifugalisation of an emulsion of rabid spinal cord for three-quarters of an hour left the upper layer of fluid still virulent. Only a single experiment appears to have been made by Franzius, and no further particulars are afforded as to the conditions under which centrifugalisation was performed³⁾.

To determine the influence of centrifugalisation upon the virus of rabies, the following procedure was adopted. A 1 in 10 pulp of perfectly fresh rabbits brain was prepared with 0,7 % sodium chloride solution. Centrifugalisation was then commenced without delay, the force employed ranging from 200 to 2050. At the end of from forty-five minutes to twenty-five hours, intracerebral inoculation of the centrifugalsed fluid was made upon rabbits. The quantity injected was greater than in ordinary inoculations with a 1 in 10 pulp of virus fixe, amounting to from 0,1 c. c. to 0,8 c. c., introduced in doses of 0,1 c. c. at intervals of half to one minute. The animals exhibited no immediate ill effect from the inoculation.

Table 1, showing the result of intracerebral injection of centrifugalsed emulsion (1 in 10) of rabid brain of rabbit, inoculated with virus fixe.

Source of virulent brain	Centrifugal force in gravitation units	Duration of centrifugalisation	Amount of centrifugalsed fluid injected intracerebrally	Upon rabbit	Result
Rabbit N	200	4 $\frac{1}{4}$ hrs.	0,5 c. c.	1	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 10 days.
" "	200	4 $\frac{1}{4}$ "	0,5 "	2	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 10 days.
" P	400	5	0,5 "	3	Remained well for six weeks.
" Q	200	5 "	0,5 "	4	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 10 days.
" "	200	5 "	0,5 "	5	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 11 days.
" R	200	25 "	0,5 "	6	Remained well for four weeks.
" S	200	25 "	0,5 "	7	" " " six "
" "	200	25 "	0,5 "	8	" " " six "
" J	2050	45 min.	0,5 "	9	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 12 days.
" "	2050	45 "	0,7 "	10	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 12 days.
" U	2050	110 "	0,7 "	11	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 12 days.
" "	2050	110 "	0,8 "	12	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 12 days.

1) Quoted by Franzius, vide infra.

2) Einige Beobachtungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Gift der Tollwut. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. 1897. p. 261—264.)

3) In order that experiments into which centrifugalisation enters can be compared one with another, it is necessary to define in quantitative terms the centrifugal force employed, as well as to state the duration of its action. In the experiments here described these two factors, concerned in causing sedimentation, are given. The centrifugal force is calculated in gravitation units from the formula $\frac{4 \pi^2 r R^2}{g 60^2}$, where r = radius of revolution, R = number of revolutions per minute, and g = acceleration due to gravity.

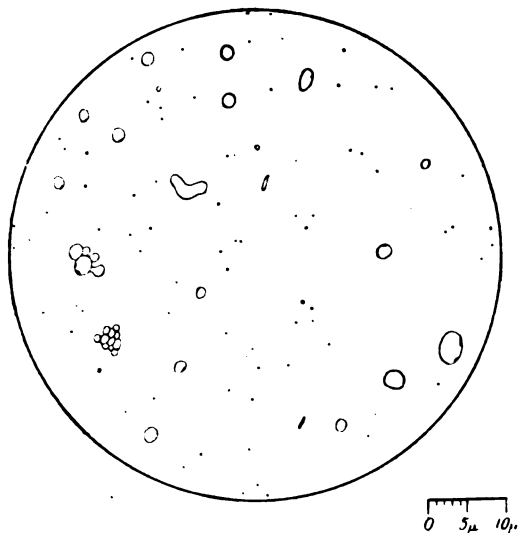
The results obtained are shown in Table 1. The experiments arrange themselves in seven groups, corresponding to emulsions prepared from different rabid brains. The centrifugal force employed was relatively low in the first five groups, while in the last two it was considerably greater but acted for a shorter period of time. Out of the twelve experiments the upper supernatant liquid after centrifugalisation was, in eight cases, still virulent, and in only four cases failed to give rabies on inoculation. Centrifugalisation for four and a quarter (exps. 1 and 2) and for five hours (exps. 4 and 5), with a centrifugal force of 200, was found to be insufficient to reduce the virus contained in the amount injected intracerebrally to less than the minimum lethal dose. Centrifugalisation for five hours (exp. 3) with a centrifugal force of 400 was however effective, as was also centrifugalisation for twenty-five¹⁾ hours with a centrifugal force of 200 (exps. 6, 7, 8). Four experiments (9 to 12) with a centrifugal force of 2050 acting for periods of forty-five and of one hundred and ten minutes, resulted in the inoculated rabbits developing rabies. These experiments show that centrifugalisation, if of sufficient intensity and duration, removes the virus of rabies from an emulsion of rabid brain.

Before considering further the significance of these results it is essential to study in some detail the naked-eye and microscopical characters and the chemical composition of the emulsion, in respect of centrifugalisation, since the interpretation of the experiments is dependent upon a knowledge of the changes thus effected.

When the ordinary 1 in 10 pulp of the rabbit's brain or spinal cord in 0,7 % sodium chloride solution is prepared, a thick emulsion is obtained, which has a white colour and contains particles of nervous tissue, readily recognisable under a low magnification, with or without staining. When this pulp is centrifugalised for a short time (twenty to thirty minutes, in the experiments recorded in the Tables), all recognisable elements collect at the bottom of the tube, forming a layer constituting from a fifth to an eighth of the bulk of fluid introduced, while above is found an opaque white liquid, of a faintly brownish tint, thinner than the pulp before centrifugalisation, and passing through ordinary Swedish filter paper without difficulty. This liquid will be referred to in the further course of this paper as "thin emulsion" to distinguish it from ordinary pulp from which it differs only in the absence of nuclei or other recognisable tissue elements. Thin emulsion prepared from a rabid brain is strongly virulent. It is similar to the filtrate through filter paper of a thick emulsion, though the latter is not entirely free from recognisable tissue elements. Thin emulsion is very suitable for inoculation intracerebrally or subdurally, and can be used with especial advantage in testing serum or other fluids for rabicide properties, since the risk of fallacy arising from the presence of visible fragments of nervous tissue, which are not readily penetrable by rabicide substances, is here avoided. After five hours centrifugalisation the supernatant liquid becomes nearly free from turbidity and is of a faintly opalescent whitish grey character, transmitting light with some loss, thus permitting objects to be seen through it, though with some diminution of distinctness. Its colour is slightly brownish by transmitted light.

1) Keeping a 1 in 10 pulp or a thin emulsion at room temperature for twenty-five hours was found not to abolish its virulence.

The microscopical characters of the centrifugised emulsion are as striking as the macroscopical characters just described. At the end of thirty minutes centrifugalisation of 1 in 10 pulp, the centrifugal force employed being 200 to 400, the thin emulsion which results is found to contain a number of minute particles, isolated or aggregated in smaller or larger groups (see figure).



The individual particles are variable in size, the larger ranging from 2μ to $0,5 \mu$ across, and the smallest being about $0,2 \mu$ in diameter. The larger particles usually have the appearance of roundish more or less spherical masses of a perfectly hyaline material, like that forming the pseudopodia of the amoeba. These masses are often aggregated, and then resemble, except for some irregularity in size, clusters of grapes. The outline of these masses, which is often so delicate as to be easily overlooked, is sometimes perfectly clear and uniform, sometimes again slightly thickened at one side. In association with these spherical masses is here and

there a variable amount of granular material, contrasting with the hyaline substance. The smallest particles present in the thin emulsion, which are in constant Brownian movement, are of such minute size that their characters cannot be defined. Brownian movement is seen in the larger spherical masses, but in a lesser degree, and is slightest in the groups of the latter.

At the end of five hours centrifugalisation of 1 in 10 emulsion of rabbit's brain, the supernatant liquid still contained though in very considerably reduced numbers the particles described above, which were also not completely removed by twenty-five hours centrifugalisation.

By studying the chemical composition of the centrifugised fluid, some idea is obtained of the quantity of nervous material, which is withdrawn from the brain substance used for pulping, and retained in the thin emulsion, while the amount of particulate matter present can also in this way be approximately determined¹⁾.

1) The chemical composition of the central nervous system has been studied by Petrowski (Plüger's Archiv. Bd. VII. p. 370), Halliburton, On the proteids of nervous tissues (Journ. of Physiol. Vol. XV. 1894. p. 90-107), Levene, On the nucleo-proteids of the brain (Arch. of Neuro- and Psycho-pathol. Vol. I. 1899. p. 1-14) and others. Foremost among the constituents removable by the action of water or saline solutions, which alone concern us here, are the coagulable proteids, which Halliburton showed to be three in number: two, coagulating respectively at 47°C and at 71°C to 75°C , he calls α and β globulin; and the third, a nucleo-proteid coagulating at 56°C to 60°C . The latter forms a milky solution precipitable by the addition of 0,17% of acetic acid. Thin emulsion, which as already mentioned is milky in aspect, similarly yields a precipitate of this proteid when acetic acid is added. But since

When thin emulsion, prepared from fresh brain is precipitated by the addition of 0,17 % of acetic acid the precipitate obtained amounts to between 0,25 % and 0,11 %, the average of the seven estimations (1, 2, 3, 4, 9, 10 and 11) recorded in Table 2 being 0,20 %. Precipitation was found to be complete in the cold; no further precipitate occurred on boiling, but on adding 2 % of nitric acid and heating, a further precipitation of neuroglobulins took place, amounting to 0,14 % to 0,08 %, the mean being very nearly 0,11 %. It is thus apparent that the composition of thin emulsion prepared from fresh brain is tolerably uniform both as regards material precipitable by acetic acid and that precipitable by nitric acid. The chief cause of variation appears to be the degree of thoroughness with which pulping is effected¹). When a brain which has been kept for some time in glycerine is employed for making a 1 in 10 emulsion the proteids increase in amount (5 and 6, Table 2). This is readily explicable since the brain loses about 40 % of its weight when dehydrated in glycerine. If however an amount of dehydrated brain is taken approximately equivalent to that required to make a 1 in 10, emulsion of fresh brain, as in estimation 7, then this increase does not take place.

The effect of centrifugalisation (centrifugal force 400 to 600 in gravitation units) upon thin emulsion is to cause a reduction in the acetic acid precipitate, due to sedimentation of suspended matter, while the percentage of the nitric acid precipitate varies only within the limits of experimental error of estimation (9, 9a, 10, 10a, 11, 11a, Table 2). Since the effect of centrifugalisation is to change the thin emulsion, which is of an opaque white colour, to a liquid which though still faintly opalescent is translucent, during which nearly the whole of the visible suspended matter is thrown down, it follows that these estimations enable an approximate estimate of the latter to be formed, namely 0,04 %, 0,10 % and 0,05 % respectively for the experiments just quoted.

If we disregard any material removed from the brain, other than suspended matter and coagulable proteids, then the thin emulsions employed for observations 9, 10, 11, Table 2, would contain approximately 0,31 %, 0,45 % and 0,29 % of brain substance respectively, or 3,1 %, 4,5 % and 2,9 % respectively of the amount of brain substance present in ordinary 1 in 10 pulp. Owing to the relatively small amount of thin emulsion up to the present available, it has not so far been practicable to make the more extended analyses necessary to obtain these data with greater accuracy³).

microscopical examination of the milky fluid shows, as above detailed, that it contains visible particles, it follows that, unless these particles can be regarded as constituting a colloidal solution of Picton and Linder's α type (cf. Solution and pseudosolution. Journ. of Chem. Soc. Part 2. Vol. LXVII. 1895. p. 63-74), the estimation of nucleo-proteid by precipitation in the ordinary way with acetic acid must contain a source of fallacy, which also extends to "salting-out" the proteids of nervous tissues. The suspended particles cannot apparently be regarded as all forming part of a hydrosol of the nucleo-proteid since they are not all alike.

1) The facility with which pulping of the brain is effected is much increased by previously stripping off the pia-arachnoid as completely as possible.

2) The amount of fluid used for the individual estimations shown in Table 2 varied from 13 c.c. to 60 c.c.

3) Before passing from the consideration of the chemical aspect of brain emulsion, the action of a 2 % solution of sodium carbonate upon thin emulsion may be referred to. This solution dissolves the precipitate of nucleo-proteid produced by acetic acid in the cold, forming a milky fluid. If equal volumes of thin emulsion and of the above

Table 2, showing the influence of centrifugalisation and of filtration through a Berkefeld filter upon 1 in 10 emulsion of rabbit's brain.

No. of experiment	Material used	How prepared	Percentage of proteid precipitated by	
			17 % acetic acid in cold	heating with 2 % of nitric acid
1	1 in 10 pulp of virulent brain, made 12 hrs. after death	centrifugalised ¹⁾ 30 min.	0,23	—
2	1 in 10 pulp of healthy brain, made immediately after animal was killed	" 30 "	0,14	—
2a	1 in 10 pulp of preceding brain, made 5 days later	" 30 "	0,11	—
3	1 in 10 emulsion of fresh healthy brain, disintegrated at T. of liquid air	" 30 "	0,25	—
4	1 in 10 emulsion of fresh virulent brain, disintegrated at T. of liquid air	" 30 "	0,15	—
5	1 in 10 emulsion of healthy brain, in glycerin 4 days, disintegrated at T. of liquid air	" 30 "	0,54	—
6	1 in 10 emulsion of virulent brain, in glycerin 5 days, disintegrated at T. of liquid air	" 30 "	0,50	—
7	1 in 10 emulsion of virulent brain, in glycerin 8 days	" 32 hrs.	0,11	—
8	1 in 10 emulsion of virulent brain, made immediately after animal was killed	" 4 "	0,19	0,12
8a	dto.	filtered through Berkefeld filter (filtrate opalescent, used for expts. 1 a. 2 Table 3)	0,11	0,08
9	1 in 10 emulsion of virulent brain, made about 14 hrs. after death	centrifugalised 15 min.	0,21	0,10
9a	dto.	" 2 1/2 hrs.	0,17	0,11
9b	dto.	filtered through Berkefeld filter (filtrate clear, used for expts. 3, 4 a. 5, Table 3)	0,11	0,06
10	1 in 10 emulsion of healthy brain, made immediately after animal was killed	centrifugalised 30 min.	0,31	0,14
10a	dto.	" 5 hrs.	0,21	0,12
10b	dto.	then filtered through Berkefeld filter (filtrate clear)	0,08 ²⁾	
11	1 in 10 emulsion of virulent brain, made immediately after animal was killed	centrifugalised 20 min.	0,21	0,08
11a	dto.	" 6 hrs.	0,16	0,08
11b	dto.	then filtered through Berkefeld filter (filtrate clear, used for expts. 6 a. 7 Table 3)	0,09	0,05
12	1 in 10 emulsion of virulent brain, made immediately after animal was killed	centrifugalised 3 hrs.	0,14	0,07
12a	dto.	then filtered through Berkefeld filter (filtrate clear)	0,08	0,07
12b	dto.	filtration repeated three times	0,09	0,07

1) The centrifugal force employed amounted (in gravitation units) to from 400 to 600.

2) On adding acetic acid in the cold a bluish-white liquid was obtained, but no precipitate; on heating with 2 % of nitric acid a precipitate formed.

Up to the present the composition of brain emulsion has been studied only in respect of centrifugalisation. It will however be seen later that further confirmation of the results obtained by centrifugalisation is afforded by Berkefeld filtration. Before proceeding further, therefore, the effect of filtration will be shortly described.

When a thin emulsion of rabbit's brain is filtered through a Berkefeld bougie, filtration takes place readily, and if the emulsion has been strongly centrifugalised, filtration is effected almost as rapidly as when distilled water is used. If, on the other hand, an attempt is made to filter 1 in 10 pulp, filtration is found to proceed with great and increasing slowness. The filtrate, if filtration is properly carried out, is quite clear and indistinguishable in aspect from distilled water. On microscopical examination no particles are seen in the filtrate¹). The effect of filtration is to remove the fine visible particles which escape sedimentation in the centrifugal machine. These are arrested on the outer surface of the filter forming a gelatinous mass, somewhat brownish in colour, possessing some degree of firmness, resisting removal, and feeling slimy to the fingers.

The effect of filtration on the chemical composition of brain-substance is shown in Table 2 (estimations 8a, 9b, 10b, 11b, 12a). In the first four estimations the Berkefeld candle was employed in the wet condition, having been sterilised in an steam steriliser. In consequence of this water has been added to the filtrate and the percentage of proteids is diminished. These experiments, therefore, though they represent the composition, as far as coagulable proteids are concerned, of the fluid used subsequently for inoculation upon animals (Table 3), do not exhibit the effect of filtration through a dry Berkefeld candle. The latter is shown in experiment 12a. Here it is seen that the material precipitable by 2 % of nitric acid passes undiminished in amount through the filter. The same statement cannot be made in respect of nucleo-proteid since this cannot be estimated before filtration apart from the visible suspended particles, but when these are removed by filtration repetition of the process of filtration does not cause any reduction of the acetic acid precipitate, as experiment 12b illustrates.

All the preceding observations on the composition of brain emulsion in respect of centrifugalisation and filtration apply equally whether the brain employed is taken from a healthy or a rabid rabbit. By the methods of investigation employed no difference between the two has up to the present been ascertained.

It is well known that the virus of rabies is arrested by filtration through a Chamberland filter²). The experiments recorded in Table 3 illustrate the behaviour of the virus in respect of the Berkefeld filter.

sodium carbonate solution are mixed and allowed to stand for eighteen hours, no change is produced in the naked-eye appearance of the emulsion. On microscopical examination the hyaline particles appear swollen, but otherwise the characters of the suspended matter are unchanged.

1) Reference may here be made to experiments 1 and 2, Table 3. In these the filtrate, which was at first quite clear, like distilled water, became after a time somewhat turbid and exhibited on microscopical examination numerous particles, mostly about 0.2 μ in diameter, a few reaching 0.5 μ . These particles were in much fewer number than in thin emulsion, and represent an imperfection of filtration which in the subsequent experiments quoted in the same Table were avoided.

2) Cf. v. Babes, Die Lehre von der Hundswut zu Ende des 19. Jahrhunderts. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 43.)

The filtrate was injected intracerebrally in amounts of 0,7 c.c. to 1 c.c. The virulent brains employed for making the emulsions were taken from rabbits in the paralytic stage, killed by bleeding. Two of the animals inoculated died of rabies; these were infected from a filtrate already described (8a, Table 2), which was imperfect, being opalescent¹⁾. Of the remaining animals two died on the 8th day and 15th day, respectively, from causes other than rabies, while the others remained well for

Table 3, showing the result of intracerebral injection of thin emulsion of rabid brain, filtered through a Berkefeld filter.

Source of virulent brain	Amount of filtrate injected intracerebrally	Upon rabbit	Result
Rabbit V	0,8 c. c. (opalescent)	1 control	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 10 days.
" "	0,7 " "	2 "	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 10 days.
" W	0,9 " (clear)	3 "	Death on 8th day with phlegmon of subcutaneous tissue of abdomen. No sign of rabies.
" "	0,9 " "	4 "	Remained well for 68 days.
" "	0,9 " "	5 "	" " " 68 "
" X	1,0 " "	6 "	" " " 64 "
" "	1,0 " "	7 "	" " " 15 " then killed.
Rabbit W	0,1 c. c. of thin emuls. inoculated intracerebrally	8 control	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 11 days.
" X	dto.	9 "	Rabies. Incubation period 9 days; death at end of 10 days.

periods of from sixty-four to sixty-eight days, during which they were kept under observation. The control animals (8 and 9) died after inoculation with a much smaller dose of unfiltered emulsion, rabies making its appearance after an incubation period of nine days. It follows, therefore, that if filtration through a Berkefeld filter is properly carried out, a perfectly clear filtrate being obtained, the virus of rabies is arrested.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die bakterizide Wirkung des Wismutsubnitrats und des Bismon (kolloidalen Wismutoxyds).

Von Dr. E. Koch in Aachen.

Das Interesse und die günstige Aufnahme, die das kolloidale Silber „Argentum colloidalis Credé“ in ärztlichen Kreisen gefunden hat, ließ es angezeigt erscheinen, sich auch über den therapeutischen Wert anderer kolloidaler Metallverbindungen zu orientieren. Nach dem Silber nimmt das Wismut eine hervorragende Stelle unter den Arzneimitteln ein, indem es sowohl innerlich wie auch äußerlich als spezifisches Heilmittel angewandt wird.

Nach der Vornahme physiologischer Versuche, die das kolloidale Wismutoxyd für äußerliche Zwecke und auch für inneren Gebrauch

1) That the illness was rabies was shown by the positive result of subsequent inoculation from the central nervous system.

geeignet erscheinen lassen, haben wir eine vergleichende Untersuchung über die bakterizide Wirkung des Wismutsubnitrats, des gebräuchlichsten Wismutpräparates, und des kolloidalen Wismutoxyds, des Bismon, angestellt.

Da es sich hierbei um eine kristallisierte, in Wasser unlösliche Verbindung und um einen löslichen kolloidalen Stoff handelte, so haben wir die Untersuchungsmethode von Tavel angewandt, indem wir immer 2 Versuchsreihen nebeneinander angestellt haben.

Die erste Versuchsreihe sollte erläutern, ob Bakterien, die auf die Oberfläche eines Nährbodens geimpft worden sind, sich unter dem betreffenden Antiseptikum entwickeln können oder ob jede Entwicklung gehemmt wird oder bis zu welchem Grade. Zum Studium dieser Frage haben wir Agar in Petri-Schalen mit verschiedenen Bakterienarten geimpft, und zwar so, daß wir sie mittels einer mittelgroßen Oese in einem einzigen Strich dick auftrugen und diesen Strich sodann mit einer reichlich messerrückendicken Schicht des Pulvers mindestens $1\frac{1}{2}$ cm breit, durch ein Sieb gleichmäßig verteilt, bestreuten.

Bevor wir nun zunächst die Ergebnisse dieser Versuchsreihe nach den Protokollen der Arbeit hier mitteilen, wollen wir noch bemerken, daß bei jedem Versuche eine Kontrollplatte mit Talcum sterilisatum angelegt wurde, um eine eventuelle Einwirkung mechanischer Natur beurteilen zu können, ferner eine Kontrollplatte aus demselben Nährmaterial, in gleicher Weise geimpft, aber ohne Pulverzusatz. Die Kontrollen von der Versuchsplatte wurden in Bouillon resp. Peptonwasser überimpft, weitere Kontrollen von diesen ersten Kontrollen, wo es nötig schien, in Gelatine angelegt. Letztere wie auch Kartoffelnährböden wurden einige Male mit dem Agarnährboden zusammen vergleichsweise in Anwendung gebracht. Sie haben jedoch keine Besonderheiten ergeben, die hier angeführt zu werden verdienten. Als wir mit *Bacterium coli* experimentierten, wurden außerdem noch Kontrollen in Milch angelegt, um uns die Beeinflussung der Gärungsenergie dieser Bakterie eventuell ohne allzu große Schwierigkeiten zu veranschaulichen.

Als Bakterien traten in Aktion: *Bacillus pyocyaneus*, *Bacterium coli*, *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, jede Art von derselben Provenienz bei den einzelnen Versuchen. Die Beobachtungsdauer eines Versuches betrug 8 Tage, die einzelnen Abschnitte, in denen immer neue Kontrollen angelegt wurden, wurden nach 1mal, 2mal, 4mal und 8mal 24 Stunden gewählt. Das Wachstum ging bei 37° vor sich, vor Licht und Austrocknung geschützt.

I. Versuch.

a) *Pyocyaneus*.

1) *Bismutum subnitricum*. Schon nach 24 Stunden ist positives Wachstum zu konstatieren, wenn auch die Kultur die Ränder des Streustriches nicht überwuchert. Bei der Probeentnahme wird eine Art Emulsionierung des Minerals bemerkbar. Die Kontrollen geben ebenfalls nach 24 Stunden bei 37° positives Wachstum, ebenso die späteren nach 2mal 24 etc. Stunden. Es wurde Abstand davon genommen, von diesen Kontrollen eine 2. Reihe Kontrollen (Nebenkontrollen) in Gelatine anzulegen, um sie auf ihr Wachstum genauer zu prüfen, da es alsbald in ihnen zur Farbstoffentwicklung kam, durchschnittlich nach 3—4mal 24 Stunden. Es ist auffallend, daß dieser Farbstoff vom typischen

Pyocyaneus-Farbstoff verschieden ist. Er hat eine eigentümliche dunkle, schwärzlich grüne Nuance, die wahrscheinlich auf Reduktionsvorgänge, durch Wismut veranlaßt, zurückgeführt werden muß. Auf den Plattenkulturen entwickelt sich kein grüner Farbstoff, vom ca. 4. Tage ab zeigt sich jedoch eine graue Verfärbung des Streustriches, namentlich an Stellen, an denen die Schicht etwas dünn ausgefallen ist.

2) Bismon (Bismutum oxydatum colloidalis). In Kontrollen aus Plattenwachstum, nach 24 Stunden angelegt, ist nach derselben Zeit eine schwache Opaleszenz bemerkbar, die sich unverändert während 1 Woche Beobachtungszeit hält. Eine 2. Reihe Kontrollen (Nebenkontrollen), aus diesen ersten in Gelatine angelegt, zeigt kein Wachstum. Die Platte selbst zeigt allmählich ein anderes Verhalten. Während nach 24 Stunden der Streustrich sich zu einer ca. 2 cm breiten, sirupartigen Masse eingedickt hat, zeigt sich nach weiteren 24 Stunden Wachstum unter dieser Masse hervor. Kontrollen nach 2mal etc. 24 Stunden fallen dementsprechend positiv aus. Es kommt zu einer starken Trübung des Peptonwassers, typischer Farbstoff und typischer Geruch fehlen jedoch. Allmählich macht sich aber, etwa nach 4 Tagen, eine rötlich braune opaleszierende Farbennuance bemerkbar. Es ist weiterhin eigentümlich, daß Gelatinekontrollen aus diesen Peptonwasserkontrollen ebensowenig typischen Farbstoff aufweisen. Die Verflüssigung ist hier meist auf den Bereich der Kolonien beschränkt, konfluert nicht, hat einen ganz fremdartigen Geruch. Bei einzelnen Gelatinekontrollen ist trotz starken Wachstums nach 8 Tagen noch keine Verflüssigung vorhanden. Daß es sich trotzdem um Pyocyaneus handelt, ergeben weitere kulturelle und mikroskopische Untersuchungen. Die ursprüngliche Platte selbst trocknet langsam ein und verfärbt sich bräunlich, ein grüner Farbstoff entwickelt sich nicht, dagegen typischer Geruch gegen Ende der Beobachtungsfrist.

b) Bacterium coli.

1) Bismutum subnitricum. Auch dem Bacterium coli gegenüber ist dieses Mineral ohne eine nennenswerte Einwirkung. Der positive bakterielle Beweis gelingt schon nach 24-stündigem Plattenwachstum. Alle Kontrollen repräsentieren sich dementsprechend. Die Energie im Vergären von Milchzucker scheint unbeeinflusst.

2) Bismon (Bismutum oxydatum colloidalis). Während die erste Kontrolle, die nach 24-stündigem Plattenwachstum abgeimpft wurde, negativ auf Coli-Befund ausfällt, läßt sich die Bakterie in den nun folgenden Kontrollen nachweisen. Die 4. Kontrollen (nach 8mal 24 Stunden) bleiben jedoch wieder frei von Wachstum. Anscheinend ist aber das Gärvermögen des Colibakteriums durch die Präparateinwirkung herabgesetzt, denn Milchkontrollen mit einer ebenso alten Coli-Kultur, die unbeeinflusst geblieben ist, geimpft, fangen durchschnittlich schon nach 18 Stunden an zu vergären, die mit Wismutcoli geimpften erst nach 2 und 3, ja 4 Tagen. Auf der Platte selbst ist das Bacterium unter dem Strich hervorgewuchert, nimmt sofort am Rande eine tiefbraune Färbung an, welche vom Streustrich weg mehr und mehr abläßt. Bezüglich der Vergärung scheint in diesem gefärbten Bezirke dasselbe Verhalten stattzuhaben, wenn man von hier aus direkt in Milch überimpft, wie mit dem indirekt aus Peptonwasser entnommenen Materiale

c) Milzbrand.

1) *Bismutum subnitricum*. Dieser Bakterie gegenüber verhält sich die Bi-Verbindung etwas aktiver. Wenn auch nach der 1. Abimpfung alsbald in Kontrollen ein fadiger Bodensatz sich bildet, der, wie Nebenkontrollen beweisen, von Milzbrandwachstum herrührt, so sieht man doch auf den Plattenkulturen eine Einwirkung des Minerals. Während nämlich bei den vorher beschriebenen Bakterienarten die Kultur alsbald unter dem Streustriche hervorwucherte, bleibt hier die Platte blank. Eine Reduktion der Metallverbindung tritt nur in sehr geringem Maße ein.

2) Bismon (*Bismutum oxydatum colloidal*e). Das Wachstum unter dem Streustriche ist negativ, doch scheint die Chemikalie nur in stärkster Konzentration in dem Maße einzuwirken. Während des Lösungsvorganges in dem Kondenswasser der Agaroberfläche gelangen einige Keime nach dem Rande der Schale zu und bilden hier Kolonien. Es ist nun interessant, zu beobachten, wie eine Zone um den Streustrich herum völlig frei von Wachstum bleibt, dann Kolonien vereinzelt und nach der Peripherie hin häufiger auftreten. Vom 4. Tage ab treten überall, wo Wachstum vorhanden ist, lebhaft Reduktionsvorgänge ein, indem es zu punktförmigen braunen Verfärbungen kommt.

d) *Staphylococcus pyogenes aureus*.

1) *Bismutum subnitricum*. Bereits nach 24 Stunden ist nach Ausfall sämtlicher Kontrollen Abtötung erfolgt. Auf der Platte selbst sieht man nur am Anfange des Kulturstriches, auf den zufällig kein Pulver gelangt ist, spärliche Entwicklung. Merkwürdigerweise trägt anscheinend das Mineral gar keine Veränderungen zur Schau. Es ist rein weiß geblieben.

2) Bismon (*Bismutum oxydatum colloidal*e). Das Wachstum ist hier wiederum durchaus positiv. Im Kondenswasser aufgelöste Substanz hat an einzelnen Stellen Bakterienmaterial nach der Peripherie hin geschwemmt. Hier finden wieder lebhaft Reduktionsvorgänge statt. Die Art und Weise des Vorganges ist dabei sehr instruktiv und läßt sich tagtäglich in seinem Umsichgreifen beobachten. Dabei tritt in den einzelnen Kolonien zunächst ein schwarzes zentrales Pünktchen auf, welches, anfangs sehr scharf abgegrenzt, sich nach und nach mehr und mehr nach der Peripherie der Kolonie hin verbreitert.

II. Versuch.

Die Versuche dieser Reihe sollten zeigen, in welcher Entfernung vom antiseptischen Pulver eine Beeinflussung des Nährbodens erzielt werden kann, so daß kein Wachstum stattfindet. Diese Beeinflussung des Nährbodens hängt naturgemäß in erster Linie von der Löslichkeit des Pulvers im Nährboden ab, die sich bisweilen durch eine gefärbte Zone kundgab.

Die Anordnung der Versuche fand in folgender Weise statt: Petri-Schalen mit Bouillonagar wurden gleichmäßig an der Oberfläche mit einer Bakterienaufschwemmung infiziert, in der Mitte mit einem Streifen des betreffenden antiseptischen Pulvers versehen und die Platten hierauf in die Brutkammer gebracht. Im übrigen wurden dieselben Maßregeln beobachtet wie bei dem I. Versuch, wie auch dieselben Bakterien zur Verwendung gelangten.

a) *Pyocyaneus*.

1) *Bismutum subnitricum*. Schon die erste Kontrolle nach 24 Stunden Wachstum auf der Platte ergibt einen positiven *Pyocyaneus*-Befund. Diese selbst gibt keinerlei Wachstumshemmung zu erkennen, denn schon nach den ersten Tagen ist die Kultur bis unter den Streustrich gewachsen. Im Mineral selbst tritt später an den Rändern hier und da schwärzliche Verfärbung auf. Auf der Platte selbst kein Farbstoff (wie bei Versuch I), in den Kontrollen schwärzlich-grüne Verfärbung.

2) *Bismon* (*Bismutum oxydatum colloidal*e). Das Verhalten in dieser Versuchsreihe ist zum Teil abweichend von dem der ersten Versuchsreihe. In den ersten Kontrollen, welche von 24 Stunden alten Platten gewonnen wurden, zeigt sich nach dem 1. Tage Opaleszenz, welche wachsend am 4. Tage in Trübung übergeht und am 8. Tage zu dunkelgrüner Farbstoffbildung. Eine Gelatinekontrolle aus der noch opaleszierenden Kontrollflüssigkeit angelegt, zeigt lebhaftes Wachstum, typische Verflüssigung und Farbstoffbildung. In allen späteren Kontrollen ist jedoch kein Wachstum mehr nachweisbar. Die Platte stimmt ihrem Exterieur nach mit diesem Verhalten des Wachstums überein. Während sie nämlich überall kräftige Entwicklung zur Schau trägt, bleibt sie in einer Zone, die im Durchschnitt $\frac{1}{2}$ cm breit den Streustrich umrandet, blank.

b) *Bacterium coli*.

1) *Bismutum subnitricum*. Es hat den Anschein, als ob die Kultur ca. 0,5 cm um den Streustrich herum weniger Wachstumsintensität entwickelte; es gibt einzelne kleine Bezirke, in denen der Nährboden ganz blank geblieben ist. Das Mineral selbst erhält sich unverändert. In allen Kontrollen ist das Wachstum positiv, so daß die Entwicklungshemmung unbedeutend genannt zu werden verdient.

2) *Bismon* (*Bismutum oxydatum colloidal*e). Während nach den ersten 24 Stunden das Pulver, abgesehen vom Einschmelzen, unverändert bleibt, macht sich auch ziemlich starkes Wachstum kenntlich. Nach 2 Tagen macht sich dagegen eine intensive Braunfärbung des Streustriches bemerkbar. Mit diesem starken Reduktionsprozeß der Bi-Verbindung muß eine Entwicklungshemmung resp. Abtötung Hand in Hand gehen, weil sich von nun ab kein Wachstum mehr feststellen läßt.

c) Milzbrand.

1) *Bismutum subnitricum*. Dem Verhalten der Platte nach findet eine deutliche Einwirkung auf den *Bacillus* statt, was die Kontrollen bestätigen. Die ersten zeigen nämlich noch bakterielles Wachstum, die zweiten kümmerliche Entwicklung, die dritten und vierten bleiben steril.

2) *Bismon* (*Bismutum oxydatum colloidal*e). Die ersten Kontrollen bleiben klar, die zweiten zeigen eine mäßige Opaleszenz, die dritten und vierten sind alsbald trüb. Entsprechend das Verhalten auf der Platte: Nach 24 Stunden ziemlich breite Zone um den Streustrich, frei von Wachstum; nach 2mal 24 Stunden allmählich Entwicklung von Kolonien, nach 4—8mal 24 Stunden fortschreitendes Wachstum. Es wird hier zum ersten Male beobachtet, wie Kolonien unter dem Streustriche an die Oberfläche desselben hervorwuchern. Diese Erscheinung ist damit zu erklären, daß der Streustrich allmählich schmilzt und das

Pulver infolgedessen nicht mehr in so starker Konzentration einzuwirken vermag. Ueberall, wo Kolonien auftreten, zeigen sich lebhaft Reduktionsvorgänge durch Schwarzfärbung an.

d) *Staphylococcus pyogenes aureus*.

1) *Bismutum subnitricum*. Eine ziemlich breite Zone um den Streustrich herum zeigt nur spärliche Entwicklung, welche aber plötzlich in eine üppige übergeht. Farbstoff nur am Schalenrande. Die ersten Kontrollen nach 1- und 2mal 24 Stunden bleiben dementsprechend anfangs klar und trüben sich vom 3. Tage ab. Bei der nunmehrigen Staphylokokkenentwicklung wird das mit in die Nährflüssigkeit gelangte Wismutsalz schwarz und gibt dem Ganzen eine schmutzige Verfärbung. Die Kontrollen nach 4- und 8mal 24 Stunden bleiben klar.

2) *Bismon* (*Bismutum oxydatum colloidal*). Das Verhalten der Platte ist dem der *Bismutum subnitricum*-Platte durchaus ähnlich, nur stellt sich hier eine Trübung und bakterielle Entwicklung auch bei den späteren Kontrollen ein. Diese zeigen ebenfalls schmutzige Verfärbung und schwarzen Bodensatz.

Aus den Versuchen geht hervor, daß das *Bismon* (kolloidales Wismutoxyd) dem *Pyocyanus*, *Bacterium coli* und Milzbrand gegenüber das Wismutsubnitrat an bakterizider Wirkung übertrifft, dagegen in der Einwirkung auf den *Staphylococcus pyogenes aureus* das letztere nicht erreicht.

Nachdruck verboten.

A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application.

[From the Laboratories of St. Bartholomew's Hospital, London.]

By

F. W. Andrewes, M.A. M.D. (Oxon) and **K. J. P. Orton, M.A. (Cantab.)**
F.R.C.P. (Lond.) **Ph.D. (Heid.), F.C.S.**

Lecturer on Pathology, and Pathologist
 in St. Bartholomew's Hospital, London.

Professor of Chemistry in the University
 of Wales, late Assistant Lecturer on Chemistry
 in St. Bartholomew's Hospital,
 London.

Chlorine water is well known to be a powerful germicide. In solutions of chlorine containing about 0,05% of the gas, it has recently been shewn, by physical measurements, that more than 90% of the chlorine exists in the form of hypochlorous and hydrochloric acids, $\text{HClO} + \text{HCl}$ (Jakowkin: Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XXIX. 1899. p. 631). It is therefore not improbable that chlorine exerts its disinfectant action as hypochlorous acid. We are unaware of any published facts as to the germicidal power of this acid in the pure state, and we therefore commenced our research by testing it.

Germicidal action of pure hypochlorous acid (HClO). The pure acid was prepared as follows. Carbon dioxide was passed through a solution of bleaching powder (0,25 N) for twenty minutes in the dark. The liquid was decanted from the major part of the solid calcium carbonate, and was then distilled, at 40–50° C, in a partial vacuum (60 mm Hg), with a current of CO_2 passing through it to carry

off any free chlorine. The distillate was collected in a receiver surrounded by a freezing mixture: any trace of chlorine remaining could be removed by aspirating moist air through the colourless liquid thus obtained. The strength of the acid was determined in the usual manner, by titrating the iodine set free from hydriodic acid. The first specimen prepared had a strength of 0,7%, by weight, of HClO , but solutions were afterwards obtained of double this strength. The more dilute solutions were stable, in the dark, for two or three days.

The accurate testing of the germicidal powers of the acid was not easy, chiefly on account of its instability when exposed to light and in presence of traces of organic matter. Our results were at times conflicting, and we finally found it best to work in a dark underground laboratory. Even now we do not feel that we have settled the exact germicidal activity of the acid, but we have satisfied ourselves that it is of the most intense character.

It was tested upon anthrax spores in the usual approved manners, and our results varied according to the method employed. We did not attempt any quantitative estimation of the spores destroyed; we simply determined, by cultivation in bouillon, whether or not complete disinfection had been brought about. At first we used a neutralizing fluid, (a sterile 5% solution of sodium bicarbonate containing a little hydrogen peroxide) to destroy any traces of acid clinging to the spores. But we found that it made little difference whether or not we used this, and we finally abandoned it. The alkaline bouillon was a sufficient neutralizing agent. The growths which occurred were examined microscopically, and, when needful, by subculture. As the result of numerous experiments we feel justified in making the following statements as to the germicidal action of pure hypochlorous acid upon anthrax spores; (we give the outside limits; in many cases the spores were killed even more quickly than the figures indicate).

a) In filtered suspension in pure water, anthrax spores were killed by a 0,01% strength of HClO , in the total mixture, in 30 seconds.

b) Watery suspensions of the spores, dried on garnets (or on rounded quartz pebbles), were sterilized by a 0,01% solution of HClO in one minute.

c) Bouillon suspensions of the spores, dried on thick silk threads, required a 0,7% solution to act for five minutes before they were destroyed. (Spores of *B. subtilis*, tested in the same way, required twenty minutes for their destruction.)

Upon non-sporing organisms we found the disinfectant action of hypochlorous acid proportionately intense.

d) In the presence of 1 part of HClO in 100 000, a suspension of *Staphylococcus pyogenes aureus* in pure distilled water was sterilized in one minute, but not in 15 seconds.

e) One part of HClO in 250 000 just failed to kill a watery suspension of the *Staphylococcus* in five minutes, but it killed a similar suspension of *B. coli communis* in between 30 and 60 seconds.

f) One part of HClO in 500 000 failed to kill *B. coli communis* in five minutes.

It is thus evident that, under favourable conditions, especially as regards absence of organic matter, hypochlorous acid must be ranked as one of the most intensely active germicides hitherto investigated.

Inhibiting power of hypochlorous acid.

The foregoing statements are based on experiments carried out in pure distilled water. We had to obtain, as a starting-point, the germicidal value of hypochlorous acid in the absence of disturbing factors. In the presence of organic matter, and especially of proteids, it is natural that so unstable an acid should rapidly be decomposed and rendered inert. One might expect, a priori, that hypochlorous acid would prove almost devoid of inhibiting power in such a medium as bouillon. Up to a certain point it should be rendered inert by the organic matter present: above this point it should kill, and kill quickly. There should be no extensive intermediate stage, such as is seen with phenol or mercuric chloride, in which growth is restrained, without actual death of the bacteria. We devised an experiment to test this point and found, as we expected, that hypochlorous acid has very little power of restraining bacterial growth. A suspension of *Staphylococcus pyogenes aureus* was made in rich veal bouillon — a suspension so dilute that the medium was barely turbid, and any further growth on incubation would be readily perceived. Ten cc of this suspension were measured out into each of six sterile test-tubes, and increasing amounts of a 0.1% solution of hypochlorous acid added as shown in the following table. A bouillon subculture was made, by capillary pipette, from each tube, half an hour after adding the acid. All the tubes were then incubated at 37° for some days.

Table (showing absence of inhibiting power of HClO).

Amount of 0.1% HClO added to 10 cc of suspension of <i>Staphylococcus aureus</i> in bouillon	Proportion of HClO	Result on incubation	Result of subculture made after 30 minutes
0.8 cc	1 in 13 500	++	++
1.1 "	1 in 10 090	++	++
1.5 "	1 in 7 666	++	++
2.5 "	1 in 5 000	0	+
5.0 "	1 in 3 000	0	0
10.0 "	1 in 2 000	0	0

++ signifies vigorous growth.

+ signifies delayed growth after 48 hours.

0 signifies no growth at all.

It will be seen from this table (1) that as much as 1 part of HClO in 5000 was required to restrain the growth of *Staphylococcus pyogenes aureus* in veal bouillon, although in distilled water this coccus is immediately killed by 1 part of the acid in 100 000, and (2) that in those tubes in which growth did not occur, the cocci were already dead in half an hour, with the exception of the 1 in 5000 tube. Even in this they were very nearly dead, as no growth occurred in the subculture until the second day. We are thus justified in asserting that hypochlorous acid has little or no restraining power in albuminous media: it either kills quickly or permits growth. In other experiments we found that it had even less power in restraining the growth of the spores of *B. subtilis* than it had over *Staphylococcus pyogenes aureus*.

The rôle of hypochlorous acid in practical disinfection.

Having thus satisfied ourselves as to the intense germicidal activity of pure hypochlorous acid, and realized the extent to which this activity

is impaired in presence of organic matter, we proceeded to investigate the principal methods by which it is, or might be actually employed in practical disinfection. The pure acid is quite unsuited to ordinary use, but there are grounds for supposing that it is the effective agent in many disinfectant mixtures in which chlorine plays a part. Such are chlorine water, bleaching powder solutions, and mixtures of hydrochloric acid with oxidizing agents. We will consider these separately.

I. Chlorine water. It is well known that dry chlorine gas has little disinfectant power, whereas in the presence of moisture it is very efficacious. Fischer and Proskauer found that wetted anthrax spores could be killed by chlorine fumigation. The recent measurements of Jakowkin (loc. cit.) have shown that in very dilute chlorine solutions the element exists mainly as hypochlorous and hydrochloric acids; the more dilute the solution, the greater is the extent of hydrolysis of the chlorine. Further, the chemical activities of chlorine are also those of hypochlorous acid. There is thus some *a priori* presumption that chlorine water may largely act in virtue of the hypochlorous acid which it contains, and we sought for experimental evidence in support of this view. In the first place we compared equivalent solutions of chlorine and hypochlorous acid as regards their action upon anthrax spores, using the same methods, and making the experiments in every way comparable.

Krönig and Paul (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV) found that a 0,03% solution of chlorine killed anthrax spores in less than two minutes; they do not state how much less. Very dilute solutions of chlorine are quickly affected by light. Using every precaution to avoid this source of error, we have found chlorine water even more potent as a germicide than Krönig and Paul's figures indicate.

a) A watery suspension of anthrax spores, dried on garnets, or quartz pebbles, was usually killed by a 0,015% solution of chlorine in between 30 and 60 seconds.

b) In filtered suspension in distilled water, anthrax spores were killed by a 0,010% solution of chlorine in 10 seconds.

Now a 0,015% solution of chlorine is the chemical equivalent of a 0,011% solution of hypochlorous acid. Employing solutions of these relative strengths, we have found, as the result of many careful experiments upon anthrax spores, conducted under different conditions, that they behave in an approximately identical manner. We must, however, repeat that it is a most difficult thing to obtain perfectly concordant results with these highly dilute solutions of chlorine and hypochlorous acid, owing to their instability in light and in the presence of traces of organic matter. In some of our experiments the two solutions appeared to possess identical killing powers upon anthrax spores. On other occasions the hypochlorous acid showed a somewhat more powerful germicidal action than the chlorine water. The chlorine never proved superior to the hypochlorous acid. This slight advantage on the side of the hypochlorous acid is, after all, what might have been anticipated on the supposition that chlorine water acts as hypochlorous acid. For in the one case we have a solution in which all the Cl is in the form of HClO, and in the other a solution in which only some 90% of it is in that form.

We have on several occasions attempted in another way to show that chlorine water acts as hypochlorous acid. According to Jakowkin's measurements it would appear that, although a very weak chlorine solution consists mainly of HClO and HCl, in presence of a further excess of

HCl (above decinormal), the HClO passes to a large extent back again into the form of Cl. We endeavoured to prove that this addition of HCl to chlorine water lessened its disinfectant power as, in theory, it should do, by lowering the concentration of HClO. The strength of hydrochloric acid used in these experiments, (0,4%, by weight, of the gas) was not such as, of itself, to produce any appreciable effect upon anthrax spores within the time limit of the experiment, as we proved by an independent test. Altogether we have made eight separate comparative experiments to determine the point. On five occasions we found that the germicidal power of the chlorine water was actually weakened by the addition of the hydrochloric acid, though usually but slightly. On the other three occasions it appeared to make no difference at all; but the addition of HCl never, in our hands, increased the germicidal powers of the chlorine.

We give the following two experiments as fair illustrations. In one the two solutions behaved in an almost identical manner; in the other the germicidal value of the acidified chlorine water was somewhat lowered. In one we used no chemical neutralizing agent; in the other we used sodium bicarbonate and hydrogen peroxide. In one we used a 0,010%, and in the other a 0,015% solution of chlorine.

Experiment 1. An emulsion of anthrax spores was dried upon cleansed and sterilized garnets, which were then preserved in the dark. The disinfectant solutions (Cl₂ 0,010%, and Cl₂ 0,010% + HCl 0,40%) were freshly prepared, accurately titrated and kept in the dark. The experiment was carried out in a dimly lighted underground room. The infected garnets were placed in glass beakers which had been freed from organic matter with a mixture of strong sulphuric and nitric acids, and then repeatedly washed with ammoniac-free distilled water. About 180 cc of the solutions were then poured over them. The garnets were picked out at the stated intervals, with sterile forceps, and transferred without any washing or chemical neutralization, to bouillon tubes, which were then incubated for several days at 37° C. The result is shown in the following table, in which ++ signifies vigorous growth of *B. anthracis* in 24 hours, + signifies growth first visible after 48 hours, and 0 signifies permanent sterility.

Table showing result of experiment 1.

	Cl ₂ , 0,010%	Cl ₂ , 0,010 + HCl 0,40%
1 minute	++	++
2 "	++	++
3 "	++	++
4 "	++	++
5 "	++	++
7 "	++	0
9 "	0	++
11 "	0	0
13 "	++	+
15 "	0	+
20 "	—	0

Here the weakened desinfectant power produced by the hydrochloric acid is scarcely perceptible. In the next experiment it is more evident.

Experiment 2. In this a stronger chlorine solution (0,015%) was used. The details are much the same, but the garnets were washed, after exposure to the disinfectants, in a sterile 5% NaHCO₃ solution, to which a little H₂O₂ had been added.

Table showing result of experiment 2.

	Cl ₂ , 0,015%	Cl ₂ , 0,015 + HCl 0,40%
30 seconds	++	++
1 minute	++	++
3 "	+	++
5 "	0	++
10 "	0	0
15 "	0	0

It is clear from the results we have obtained that more numerous investigations are required to settle the matter. But, in spite of their lack of complete uniformity, our experiments appear to point all in one direction. They seem to us to confirm, from the biological standpoint, the physico-chemical measurements of Jakowkin. We suggest, though we freely admit that we have not succeeded in finally proving, that, as a disinfectant, a 0,015% solution of chlorine not only resembles, but practically is a 0,011% solution of hypochlorous acid, in which the traces of chlorine and hydrochloric acid present play no essential part.

II. Bleaching powder solution owes its germicidal power to calcium hypochlorite, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$. It cannot be supposed that the CaCl_2 and CaO present have much to do with its disinfectant virtues, save indirectly. The presence of the free alkali has, however, an important indirect influence in the disintegration of mucus, so that bleaching powder comes to be the best agent at our command for the disinfection of sputa. But in alkaline solution calcium hypochlorite cannot act to the best advantage. In order to obtain the most powerful effects from bleaching powder, a weak acid must be added to liberate free hypochlorous acid. A strong acid liberates free chlorine: acetic or carbonic acid is the best.

In experiments directed to this point we found that a saturated solution of bleaching powder, containing about 5% of calcium hypochlorite, and so strong as to disintegrate a sponge in one minute into a frothy pulp, took between 7 and 10 minutes to destroy anthrax spores dried on quartz pebbles. But this same solution, diluted with twice its volume of 1,25% acetic acid, killed the spores, under identical conditions, in less than 1 minute.

We further contrasted a 0,02% hypochlorous acid solution with a bleaching powder solution, acidified with weak acetic acid, of such strength as to be equivalent to a 0,02% solution of HClO . We found their disinfectant action upon anthrax spores to be practically the same.

Hypochlorous acid thus appears to be the essential disinfectant agent in bleaching powder and in other hypochlorite solutions. As a practical measure, the addition of vinegar, or even free exposure to the carbon dioxide of the air, will be found of much value where bleaching powder is employed as a germicide.

III. Mixtures of hydrochloric acid with oxidizing agents. Several mixtures of this kind are in practical use. A combination of hydrochloric acid and potassium chlorate is the basis of a familiar and excellent gargle; its virtue has usually been ascribed to the chlorine liberated. The beautiful and accurate labours of Krönig and Paul (loc. cit. p. 73) have established the germicidal value of such mixtures upon a scientific and quantitative basis. We do not however find in their paper any recognition of hypochlorous acid as the possible active agent in such mixtures; they attribute their effects to "nascent" chlorine.

It is the special merit of Krönig and Paul to have drawn attention to the combination of potassium permanganate with hydrochloric acid. They claim that a 1% solution of KMnO_4 , containing 0,5% of HCl gas, is more than equal, in disinfectant value, to a 5% solution of mercuric chloride.

Our own experiments with this mixture have convinced us that their statements are correct, provided that organic matter is absent. We find that it kills anthrax spores, dried on quartz pebbles, in less than 30 seconds. But we also find that if a bouillon suspension of anthrax spores is dried on thick silk threads, such as are used for surgical ligatures, Krönig and Paul's mixture takes nearly 4 hours to kill the spores. If one uses no neutralizing reagent this fact is not apparent, but if the threads are soaked for a few minutes, after exposure to the disinfectant, in a solution of sodium bicarbonate and hydrogen peroxide, the persistent vitality of the spores is brought to light. The reason lies probably in the deposit of manganese dioxide which occurs amongst the fibres of the silk and protects the spores. The fact is of importance, for it proves that the mixture, though of marvellous activity in destroying fully exposed spores, cannot be so readily trusted to disinfect textile fabrics. Krönig and Paul's permanganate mixture justly takes its place as a skin disinfectant of the first rank in surgical practice, far superior to the mercuric salts. It has, however, very inconvenient staining properties, and although these are an index of its disinfectant power and can be removed by oxalic acid, many surgeons object to it on this ground.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Desinfektion mit Karboformalglühblocks.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. Alfred Liedke, ehemaligem Assistenten am Institute.

Die Desinfektionswirkung der von der Firma Max Elb in Dresden in den Handel gebrachten Karboformalglühblocks ist schon mehrfach — ich erinnere an die Arbeiten von Enoch¹⁾, Dieudonné²⁾, Erne³⁾ — Gegenstand ausführlicher Untersuchungen gewesen. Die Resultate derselben sind relativ günstige: denn es geht aus ihnen hervor, daß die Glühblocks zur Desinfektion kleiner und mittelgroßer Zimmer ganz geeignet sind. Da das Formaldehyd seit einiger Zeit eine erste Stelle unter den zur Wohnungsdesinfektion benutzten Mitteln einnimmt, erschien es mir von Wichtigkeit, einmal die Wirksamkeit der Karboformalglühblocks in Räumen von größeren Dimensionen, wie sie etwa Schulzimmer haben, einer näheren Prüfung zu unterziehen.

Meine Versuche wurden im März 1902 angestellt. Verschiedene Umstände haben dabei mitgewirkt, daß die Veröffentlichung derselben erst jetzt erfolgt.

1) Hyg. Rundschau. Jahrg. IX. 1899.

2) Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 42.

3) Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 48.

Das Versuchszimmer hatte einen Rauminhalt von 225 cbm bei einer Höhe von 3,4 und einer Länge von 13,5 m und enthielt eine Anzahl von Tischen, Schränken — darunter einen von 2,32 m Höhe — Kisten. Vor Beginn eines jeden Versuches wurden die in dem Zimmer befindlichen Fenster nebst einer aus einem unbenutzten Nebenraume in dasselbe hineinführenden Tür in sorgfältigster Weise gedichtet, während die Ausgangstür sofort nach Anstellung des Versuches in derselben Art verschlossen wurde. Als Testobjekte dienten Zeugproben von 1 qcm Größe und Fäden weißer Seide von 2 cm Länge, welche mit Aufschwemmungen von Kulturen des Typhus-, Coli-, Milzbrand- (sporenhaltig), Diphtheriebacillus bezw. des Staphylococcus aureus imprägniert waren, und ferner Verbandgazestückchen, an welche Staphylokokken- und Streptokokkeneiter angetrocknet war. Diese Testobjekte wurden in sterile Petri-Schalen gebracht und letztere nun auf und unter die oben erwähnten Tische, Schränke etc. gestellt und dann bei Beginn des Versuches geöffnet, nach Beendigung desselben wieder geschlossen. Hierauf wurden die Testobjekte in Röhrchen mit Nährbouillon gebracht und nach 24—48-stündigem Stehen im 37°-Brutschranke von sämtlichen Bouillonröhrchen je 3 große Platindrahtösen auf Nähragar bezw. Blutserum übergeimpft.

Die Glühblocks, deren ich zur Ausführung der Versuche bedurfte, wurden mir in entgegenkommender Weise von der Firma Elb zur Verfügung gestellt.

I. Versuch am 14. März 1902.

Beginn: 12 Uhr 30 Min. p. m. }
 Beendigung: 7 „ 30 „ „ „ } Versuchsdauer: 7 Stunden.
 Temperatur: 17° C.

Zur Durchfeuchtung des Raumes wurden 6 l siedenden Wassers nach und nach auf 3 glühend gemachte, zerstückelte Ziegel gegossen und dadurch größtenteils zur Verdampfung gebracht, und zwar wurden gleichzeitig an zwei verschiedenen Stellen je 3 l Wasser auf je 1½ Ziegel verwendet.

Es wurden ausgestellt 31 Testobjekte mit Typhus-, Coli-, Milzbrand-, Diphtheriebacillen und 4 Stückchen Verbandgaze mit Staphylokokkeneiter. Von

8 Testobjekten mit Typhus	lieferten 4 Kulturen nach 40, 60 bezw. 72 Stunden
6 „ „ Coli	„ 2 „ „ 40 Stunden
8 „ „ Milzbrand	„ 8 „ „ 40—140 Stunden
5 „ „ Diphtherie	„ 0 „ „
4 „ „ Staphylokokkeneiter	lieferten 4 Kulturen nach 40 Stunden

31 Testobjekten lieferten demnach 18 Kulturen.

Zur Desinfektion wurden verbraucht 11 Karboformalglühblocks.

Es waren daher bei einer Versuchsdauer von 7 Stunden und Anwendung von 2,44 g Formaldehyd pro 1 cbm Rauminhalt von 31 Testobjekten abgetötet worden 13 = 41,94 Proz.

Die Kontrollproben waren sämtlich angegangen.

II. Versuch am 17. März 1902.

Beginn: 11 Uhr 30 Min. a. m. }
 Beendigung: 7 „ 30 „ p. m. } Versuchsdauer: 7½ Stunden.
 Temperatur: 17,5° C.

Durchfeuchtung des Raumes wie bei dem I. Versuche. Es wurden

ausgestellt 36 Testobjekte mit Typhus-, Coli-, Milzbrand-, Diphtheriebacillen, Staphylokokkeneiter. Von

8 Testobjekten mit Typhus	lieferten 7 Kulturen nach 40, 60 bzw. 180 Stunden
8 " " Coli	" 4 " " 40 bzw. 60 Stunden
8 " " Milzbrand	" 7 " " 40 " 60 "
8 " " Diphtherie	" 0 " "
4 " " Staphylokokkeneiter	lieferten 4 Kulturen nach 40 bzw. 60 Stdn.

36 Testobjekten lieferten demnach 22 Kulturen.

Zur Desinfektion wurden verbraucht 12 Karboformalglühblocks.

Es waren also bei einer Versuchsdauer von $7\frac{1}{4}$ Stunden und Anwendung von 2,66 g Formaldehyd pro 1 cbm Rauminhalt von 36 Testobjekten abgetötet worden 14 = 38,9 Proz.

Die Kontrollproben waren sämtlich angegangen.

III. Versuch am 20. März 1902.

Beginn: 10 Uhr 30 Min. a. m. } Versuchsdauer: 8 Stunden.
 Beendigung: 6 " 30 " p. m. }
 Temperatur: $17,5^{\circ}$ C.

Zur Durchfeuchtung des Raumes wurden 4 bzw. 2 Stunden vor Beginn des Versuches je 10 l zum Sieden erhitzten Wassers mit einer Gießkanne in dem Zimmer versprengt, außerdem aber noch unmittelbar vor Beginn des Versuches wie bei dem I. und II. Versuche 6 l siedenden Wassers auf 3 glühend gemachten Ziegeln zur Verdampfung gebracht.

Es wurden ausgestellt 42 Testobjekte mit Typhus-, Coli-, Milzbrand-, Diphtheriebacillen, Staphylococcus aureus, Staphylokokken-, Streptokokkeneiter. Von

4 Testobjekten mit Typhus	lieferte 1 Kulturen nach 48 Stunden
4 " " Coli	lieferten 2 " " 24 " "
4 " " Milzbrand	" 3 " " 48 bzw. 90 Stunden
4 " " Diphtherie	" 0 " "
12 " " Staphylococcus aureus	lieferten 10 Kulturen nach 48 bzw. 90 Std.
2 " " Staphylokokkeneiter	" 0 " " 48 Stunden
12 " " Streptokokkeneiter	" 2 " " 36 bzw. 48 Std.

42 Testobjekten lieferten demnach 18 Kulturen.

Zur Desinfektion wurden verbraucht 12 Glühblocks.

Es waren also bei einer Versuchsdauer von 8 Stunden und Anwendung von 2,66 g Formaldehyd pro 1 cbm Rauminhalt von 42 Testobjekten abgetötet worden 24 = 57,14 Proz.

Die Kontrollproben waren sämtlich angegangen.

IV. Versuch am 25. März 1902.

Beginn: 10 Uhr 30 Min. a. m. } Versuchsdauer: 9 Stunden.
 Beendigung: 7 " 30 " p. m. }
 Temperatur: $18,5^{\circ}$ C.

Zur Durchfeuchtung des Raumes wurden 2 Stunden bzw. unmittelbar vor Beginn des Versuches je 12 l zum Sieden erhitzten Wassers mit einer Gießkanne in dem Zimmer versprengt, außerdem aber noch unmittelbar vor Beginn des Versuches, wie sonst, 6 l siedenden Wassers auf 3 glühend gemachten Ziegeln zur Verdampfung gebracht.

Es wurden ausgestellt 40 Testobjekte mit Typhus-, Coli-, Milzbrand-, Diphtheriebacillen, Staphylococcus aureus, Streptokokkeneiter. Von

4	Testobjekten mit Typhus	lieferten	0	Kulturen	
4	"	"	Coli	"	0
4	"	"	Milzbrand	"	2
4	"	"	Diphtherie	"	0
12	"	"	Staphyl. aureus	lieferten	11
12	"	"	Streptokokkeneiter	"	2
					36
40	Testobjekten	lieferten	demnach	15	Kulturen.

Zur Desinfektion wurden verbraucht 14 Glückblocks.

Es waren also bei einer Versuchsdauer von 9 Stunden und Anwendung von 3,11 g Formaldehyd pro 1 cbm Rauminhalt von 36 Testobjekten abgetötet worden 25 = 62 Proz.

Die Kontrollproben waren sämtlich angegangen.

Hiernach bin ich bei meinen Versuchen nicht zu so günstigen Resultaten gelangt, wie sie von anderer Seite erhalten worden sind. Im I. Versuche wurde bei Verwendung der vorgeschriebenen Formaldehydmenge von 2,5 g auf 1 cbm Raum, nach Vorschrift ausgeführter Durchfeuchtung des Zimmers und der im allgemeinen als ausreichend bezeichneten Versuchsdauer von 7 Stunden nur eine Abtötung von 41,94 Proz. der ausgestellten Testobjekte erreicht. Da trotz des — allerdings nur geringen — Mehrverbrauchs von 50 g Formaldehyd das Resultat des II. Versuches nicht besser ausfiel, wie das des I., so hoffte ich, bei dem III. Versuche bei gleicher Formaldehydmenge wie bei dem II. Versuche durch eine stärkere Durchfeuchtung des Zimmers einen günstigeren Erfolg zu erzielen, konnte aber auch dieses Mal nur zu einer Abtötung von 57,14 Proz. der Testobjekte gelangen. Bei dem IV. Versuche kamen 150,0 g Formaldehyd mehr zur Anwendung als bei dem I. Versuche, die Durchfeuchtung geschah mit einer geringen Abweichung wie bei dem III. Versuche und die Versuchsdauer betrug 9 Stunden, jedoch auch jetzt wurden nur 62 Proz. der Testobjekte abgetötet.

Ich erhöhte, wie bereits oben angegeben, bei dem III. und IV. Versuche den Feuchtigkeitsgehalt des Zimmers durch Aussprengen zum Sieden erhitzten Wassers vor dem Beginn der Versuche. Diese Maßregel schien mir, da sie ja nur eine vorbereitende sein sollte, zu genügen, und wenn ich die dadurch erzielte Steigerung des Feuchtigkeitsgehalts der Zimmerluft auch nicht hygrometrisch bestimmt habe, so wurde derselbe doch so weit erhöht, daß der Aufenthalt in dem Zimmer höchst unbehaglich war. Die Zimmertemperatur betrug bei den beiden letzten Versuchen 17,5° bzw. 18,5° C. Da außerdem bei Beginn jedes Versuches stets noch die vorgeschriebene Quantität zum Sieden erhitzten Wassers auf der entsprechenden Anzahl zerkleinerter, glühend gemachter Ziegel zur Verdampfung gebracht wurde, wonach das Zimmer mit Wolken von Wasserdampf erfüllt war, glaube ich mich zu der Annahme berechtigt, daß wenigstens bei dem III. und IV. Versuche die Luft des Versuchszimmers genügend Feuchtigkeit enthielt, um sowohl eine Polymerisierung des Formaldehyds zu dem desinfektorisch viel weniger wirksamen Paraformaldehyd zu verhindern, als auch die Testobjekte der Einwirkung der Formaldehyddämpfe zugänglicher zu machen.

Es ist verschiedentlich darauf hingewiesen worden, daß der *Staphylococcus pyogenes aureus* dem Formaldehyd gegenüber eine recht erhebliche Widerstandsfähigkeit besitzt^{1) 2)}. Ich habe diese An-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 704.

2) Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. 1903. p. 115.

gaben bestätigt gefunden; denn bei meinem III. Versuche erhielt ich von 12 Testobjekten mit *Staphylococcus pyogenes aureus* 10 Kulturen und bei dem IV. Versuche von ebenfalls 12 Testobjekten 11 Kulturen. Es war mir nun interessant, festzustellen, inwieweit meine bei den beiden letzten Versuchen erhaltenen Resultate eine Aenderung erfuhren, wenn ich die Testobjekte mit *Staphylococcus pyogenes aureus* bei der Berechnung ausschloß. Ich tat das letztere und kam dabei zu dem immerhin günstigeren Ergebnisse, daß nun bei

dem III. Versuche von 30 Objekten 22 = 73,33 Proz. abgetötet waren

„ IV. „ „ 28 „ 24 = 85,71 „ „ „

Nach Abba und Rondelli¹⁾ wirkt das leichte Formaldehydgas mehr auf die höheren Teile des Raumes, wodurch die Desinfektion der unteren Teile beeinträchtigt wird. Meine beiden ersten Versuche scheinen diese Annahme zu bestätigen, denn es wurden bei dem I. Versuche von

17 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 4 = 23,53 Proz. abgetötet,

14 in einer Höhe von 80–232 cm aufgestellten Testobjekten 9 = 64,29 Proz. abgetötet,

bei dem II. Versuche von

15 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 5 = 33,33 Proz. abgetötet

21 wie bei I höher aufgestellten „ 9 = 42,86 „ „

Jedoch schon bei dem III. Versuche war ein bemerkenswerter Unterschied nach dieser Richtung hin nicht vorhanden, denn es wurden von

20 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 11 = 55,0 Proz. abgetötet

22 wie bei I höher aufgestellten „ 13 = 59,09 „ „

während bei dem IV. Versuche das Resultat umgekehrt wie bei dem I. und II. Versuche war, da hier von

16 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 13 = 81,25 Proz.,

24 wie bei I höher aufgestellten „ 12 = 50,0 „ abgetötet wurden.

Schließt man auch hier bei dem III. und IV. Versuche die Testobjekte mit *Staphylococcus pyogenes aureus* von der Berechnung aus, dann ergibt sich, daß bei dem III. Versuche von

12 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 9 = 75,0 Proz.,

18 höher aufgestellten „ 13 = 72,22 „ abgetötet waren

und bei dem IV. Versuche von

14 auf den Fußboden gestellten Testobjekten 12 = 85,71 Proz.

14 höher aufgestellten „ 12 = 85,71 „ abgetötet waren,

d. h. daß bei dem III. und IV. Versuche der Aufstellungs-ort der Testobjekte von keiner Bedeutung für die Wirkung des Formaldehyds war. Allerdings waren meine Testobjekte nur bis zu einer Höhe von 2,32 m aufgestellt, so daß ich es dahingestellt sein lassen muß, ob und inwieweit die Verhältnisse zwischen 2,32 und 3,4 m Höhe (3,4 m Zimmerdecke) anders lagen. Wie dem aber auch sein mag, das eine geht meines Erachtens aus meinen Versuchen hervor, daß die von Abba und Rondelli ausgesprochene Ansicht keine allgemeine, sondern nur eine relative Gültigkeit hat.

Hinsichtlich der Wirkung der Karboformalglühblocks als Desinfektionsmittel läßt sich meiner Meinung nach aus meinen Versuchen der Schluß ziehen, daß dieselben, sobald sie zur Desinfektion größerer Räumlichkeiten benutzt werden, nicht den Erwartungen entsprechen, welche zu hegen man nach den mit kleineren Zimmern gewonnenen

1) Centrabl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 843.

Ergebnissen berechtigt ist. Zugeben muß ich, daß bei meinen Versuchen durch die in dem Zimmer befindlichen Tische, Schränke etc. die gleichmäßige Verteilung des Formaldehyds verhindert und dadurch auch seine desinfektorische Wirkung bis zu einem gewissen Grade beeinträchtigt worden sein wird. Niemand aber wird in diesem Umstände einen Grund zur Einschränkung meiner Ansicht sehen, da man ja auch in der Praxis für gewöhnlich mit Räumen zu tun hat, welche mehr oder weniger mit Möbeln, Schulbänken etc. bestellt sind.

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

Inhalt.

- Andrewes, F. W. and Orton, K. J. P.**, A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application, p. 645.
- Barratt, J. O. Wakelin**, Centrifugalisation and disintegration in relation to the virus of Rabies, p. 633.
- Calamida, Dante**, Das Hämolyisin des Bacillus der Hühnercholera, p. 618.
- Fermi, Claudio u. Bassu, E.**, Untersuchungen über die Anaërobiosis, p. 563.
- Fischöeder, F.**, Weitere Mitteilungen über Paramphistomiden der Säugetiere, p. 598.
- Ghon, A. u. v. Preyssa, W.**, Studien zur Biologie des Influenzabacillus, p. 531.
- Grawitz, E.**, Bemerkungen zu dem Artikel über „Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung“ von Moritz Silberstein in No. 1 dieses Bandes vom 5. Nov. 1903, p. 593.
- Jancsó, Nikolaus**, Ergebnisse betreffend die Bedeutung der Milz- und Venenpunktion bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis, p. 627.
- Kamen, Ludwig**, Zur Aetiologie der Gasphlegmone, p. 554.
- Koch, E.**, Ueber die bakterizide Wirkung des Wismutsubnitrats und des Bismon (kolloidalen Wismutoxyds), p. 640.
- Konrádi, Daniel**, Tpxhusbacillen im Brunnenwasser, p. 568.
- Liedke, Alfred**, Ueber die Desinfektion mit Karboformalglühblocks, p. 651.
- Looss, A.**, Einige Bemerkungen zu Pieris „kurzer Erwiderng“ etc., p. 602.
- Marchand, F. u. Ledingham, J. C. G.**, Zur Frage der Trypanosoma-Infektion beim Menschen, p. 594.
- Murata, N.**, Ueber die Schutzimpfung gegen Cholera, p. 605.
- Nagelschmidt, Franz**, Gibt es latente Präzipitine?, p. 622.
- Ottolenghi, D.**, Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus, p. 546.
- Preiss, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). (Forts.), p. 537.
- Schwoner, Josef**, Ueber die hämolytische Wirkung des Loefflerschen Bacillus, p. 608.
- Selter, Hugo**, Ueber ein rotzähnliches Bakterium beim Menschen, p. 529.
- Sleeswijk**, Bemerkung zum Artikel: Deutungsversuch der Eigenschaften und Wirkungsweise der Immunkörper von Prof. Dr. H. Zangger, p. 621.
- Steiger, Paul**, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege. (Schluß.), p. 574.

Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 5.

Nachdruck verboten.

Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus

(mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei
anderen Bacillen).

Von Prof. Dr. H. Preisz in Budapest.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Endlich muß ich noch bemerken, daß ich bohnenförmige Gebilde von der Größe etwa einer halben Spore (Fig. 241) mit einem schwarzblauen Zentralstäbchen niemals gesehen habe; offenbar handelt es sich hier um eine Schematisierung junger Sporen, die Nakanishi zu der Annahme veranlaßten, daß die Sporenbildung eine intracelluläre Einkapselung des von ihm als Kern angesprochenen Gebildes seien. Müßte ich dieses Bild in irgend einer der von mir beobachteten Phasen der Sporenentwicklung unterbringen, so könnte ich es wohl nur als eine Vorspore mit dunkel gefärbtem Zentralplasma auffassen (siehe Fig. 70).

In der mir zu Gebote stehenden Literatur fand ich über Milzbrandbacillus bloß eine Abbildung, wo junge Sporen nach Lagerung, Gestalt und Größe den von mir beschriebenen entsprechen; es ist die A. Fischers. Diese jungen Sporenkörper sind zweifellos identisch mit meinen ausgewachsenen Vorsporen und sind noch polär gelagert; mit Jodalkohol und Delafieldschem Hämatoxylin behandelt, erscheinen sie vakuolisiert und bergen ein kleines, rotes Chromatinkorn an der Peripherie. Wenn aber A. Fischer die Spore einfach durch eine Zusammenziehung des Inhaltes der Zelle entstehen läßt, so stimmt dies mit dem von mir beobachteten komplizierten Entwicklungsgange nicht überein. Bei dieser Gelegenheit äußert A. Fischer auch die Ansicht (ich weiß nicht, ob er sie derzeit noch gelten läßt), daß die schwere Färbbarkeit der reifen Spore nur durch die Impermeabilität ihrer Haut bedingt werde, welcher Anschauung ich nicht beistimmen könnte, und zwar aus folgenden Gründen. Die im Zentrum der Vorspore erscheinende junge Spore färbt sich bei anscheinend gleichbleibender und noch unvollendeter Sporenschale anfangs intensiv, später aber schwach oder gar nicht mehr und wird lichtbrechender; ferner ist leicht festzustellen, daß in Keimung begriffene Sporen an Brechungsvermögen verlieren und färbbar werden, noch ehe ihre Gestalt und Größe oder ihre Schale sich geändert hätte. Ist aber erwiesen, daß die Substanz der reifenden und der keimenden Spore verschieden ist von jener der reifen und ruhenden Spore, wogegen die Durchlässigkeit der Sporenhaut in den verschiedenen Phasen der Spore wohl kaum zu bestimmen ist, so ist meines Erachtens die Annahme näherliegend, daß die verschiedene Färbbarkeit der Sporen durch die Verschiedenheit der Sporenschale selbst bedingt wird. Diese Annahme wird gestützt durch die Tatsache, daß zwischen der gänzlich ungefärbten Schale und dem Sporenkörper nicht selten ein intensiv gefärbter Saum zu beobachten ist, der vielleicht der äußersten Schicht des Sporenkörpers oder vielleicht einem dünnen inneren Sporenhäutchen entspricht; der Farbstoff konnte also die dicke Sporenschale durchziehen, ohne sie zu färben.

Vergleicht man die von mir beim Milzbrandstäbchen beobachtete Sporenbildung mit den Angaben jener Forscher, die die Spore nicht aus präformierten Körnchen der Zelle entstehen lassen, so läßt sich leicht konstatieren, daß diese Angaben sich fast ausschließlich auf jenes Stadium der Sporenbildung beziehen, das bereits meiner Vorspore entspricht, nicht aber auf jüngere Stadien, nicht auf die eigentliche Anlage der Spore.

Der „dunkle Schatten“, den Brefeld im *Bacillus subtilis*, der „nicht scharf umschriebene Flecken“, den A. Koch im *Bacillus carotarum*, die „Sporenvakuole“ A. Meyers im *Bacillus asterosporus*, die „graue glanzlose Masse“, die Mühlshlegel in einigen *Bacilli granulosi*, sowie auch die „unscharf begrenzte Protoplasma- ballung von mattem Glanze“, die Ascoli bei der Sporenbildung des *Bacillus anthracis*, *subtilis* und *megatherium* beschreibt, entspricht von den von mir beobachteten Entwicklungsstadien zweifellos jenem, wo die Vorspore bereits fertig, der Glanz und die Schale der reifen Spore aber noch nicht vorhanden ist. Ueber die Entstehung jener verschieden benannten jungen Sporen finden sich keine näheren Angaben, und doch ist es sehr wahrscheinlich, daß diese Gebilde auch bei jenen Bakterienarten nicht plötzlich auftauchen, sondern sich allmählich entwickeln. Durch Kontraktion, durch ein Sammeln der Masse des Stäbchens an einer Stelle soll die Spore entstehen (Brefeld, Peters, Klein, A. Fischer); nach Frenzel aber ist die Sporenanlage (er nennt sie „Sporenkern“) „plötzlich da“.

Eine völlige Uebereinstimmung finde ich zwischen den von mir abgebildeten ausgewachsenen oder fast ausgewachsenen Vorsporen einerseits und den von A. Meyer beim *Bacillus asterosporus* und *tumescens* eingehend beschriebenen und abgebildeten Sporenvakuolen andererseits; letztere sind als der Polwand knapp anliegende, sich stärker färbende, rundliche Gebilde dargestellt mit einem (auch zwei) dunkelroten (Formolfuchsin) Kern (Fig. 250). Ferner haben die Vorsporen auch beim Milzbrandstäbchen, besonders in ungefärbtem Zustande, tatsächlich das Aussehen von Vakuolen; zumeist fand ich ihre Substanz homogen, manchmal aber sah ich in ihnen dunklere Plasma- bänder, so wie sie A. Meyer in der Sporenvakuole des *Bacillus asterosporus* abbildet. Auch nach A. Meyers Abbildungen löst sich später die Spore vom Pole ab und rückt der Mitte der Zelle näher (Fig. 249).

Allem Anscheine nach ist das dunkelrote Körnchen, welches Mühlshlegel im Zentrum der „grauen, glanzlosen Masse“ (= Sporenanlage) nachwies, identisch mit dem Chromatinkorn A. Fischers in der jungen Milzbrandspore, mit A. Meyers Sporenkern und mit dem von mir beschriebenen Kern, während die von ihm beobachteten, an Größe zuweilen die Spore übertreffenden Granula wohl nichts anderes als Reservestoffe gewesen sind, die sich an der Sporenbildung formell nicht beteiligten.

Nach dieser kurzen, aber, wie ich meine, nichts Wesentliches verschweigenden Uebersicht des gegenwärtigen Standes unserer Kenntnisse über Sporenbildung glaube ich behaupten zu können, daß meine Forschungsergebnisse die Entwicklung der Spore in ihren jüngeren und jüngsten Stadien beleuchten; namentlich ist es mir gelungen, die Entwicklung jener jüngsten Stadien aufzudecken, die der von mir als Vorspore bezeichneten Phase vorangehen.

Die vollkommene Uebereinstimmung der Sporentwicklung bei mehreren Bakterienarten berechtigt mich wohl zu der Annahme, daß die Sporenbildung auch bei anderen Bakterien auf ähnliche Weise vor sich gehe. Das Wesentliche dieses Vorganges ist in kurzer Fassung folgendes:

An der Sporenbildung, die stets in einem Ende der Zelle erfolgt, beteiligt sich vornehmlich die Rindenschicht des Plasmas und ein chromatisches Körnchen (Zellkern); die Rindenschicht des fertilen Pols gewinnt an Färbbarkeit, bildet gegen die Mutterzelle eine Scheidewand und schließt einen Zellkern oder eine Hälfte eines solchen in den fertilen Pol, d. h. in die Sporenanlage. Diese Anlage vergrößert sich, verliert allmählich ihre intensive Färbbarkeit sowie auch den Kern, löst sich allmählich von der Wand der Mutterzelle und wird zur frei in letzterer liegenden Vorspore, die an Größe die reife Spore stets mehr oder weniger übertrifft. Aus dem zentralen Teile der Vorspore wird der Körper der definitiven Spore, aus dem peripherischen Teile aber wird die Schale der Spore.

Meine Untersuchungen lassen mich nicht annehmen, daß der in die Sporenanlage geratene Zellkern selbst zum Sporenkörper werde, denn dieser differenziert sich aus der homogenen Vorspore heraus und zwar gleich in der Größe der reifen Spore.

Höchst auffallend ist es, daß Sporenanlagen ohne Ausnahme stets nur in den Polen, nie aber an den Seitenwänden der Bakterienzellen entstehen; sollte sich diese Erscheinung einfach dadurch erklären, daß die Abgrenzung eines Zellkernes samt Plasmahof in der Spitze oder in einer Ecke der Zelle um vieles leichter, nämlich durch eine relativ kleinste Scheidewand bewerkstelligt werden kann, während an einer Seitenwand für denselben Zweck eine bedeutend größere Scheidefläche neugebildet werden müßte?

Aus meiner Schilderung der Sporenbildung ergibt sich endlich, daß jene Beobachtungen, wonach die Spore aus einem Körnchen heranwächst, nicht unbedingt jenen widersprechen, die die Spore aus einer bereits die Größe einer Spore besitzenden Anlage entstehen lassen; denn während letztere Angaben sich zweifellos auf die von mir als Vorsporen bezeichneten, also bereits älteren Stadien beziehen, könnte es sich bei ersteren Beobachtungen zum Teil vielleicht doch um jene Kerne gehandelt haben, die in jüngsten Sporenanlagen zu liegen pflegen.

Zum Schlusse hätte ich noch einiges zu berichten über Verhältnisse, die zwar, wenigstens zum Teil, nicht unbekannt sein dürften, die aber durch meine Beobachtungen auf das klarste beleuchtet werden; ich meine nämlich die Individualitätsunterschiede der Milzbrandstäbchen, die sich auf verschiedene Weise zu erkennen gaben.

Natürlich sehe ich hier ab von den Unterschieden zwischen verschiedenen Stämmen und habe bloß das verschiedene Verhalten der Zellen eines bestimmten Stammes vor Augen.

So reichlich auch irgend ein Stamm Sporen bildet, immer gibt es eine Anzahl von Zellen, die es nicht bis zur Sporulation bringen, sondern degenerieren und schließlich zerfallen; ich habe in alten Kulturen nie dergleichen Zellen vermißt. Woran es aber liegt, daß von zwei nebeneinander, unter scheinbar ganz ähnlichen Verhältnissen sich befindlichen Zellen die eine eine Spore bildet, die andere aber nicht, das

ist und bleibt auch wohl ein Rätsel, das wir in den Begriff der Individualität hüllen.

Nicht weniger auffällig äußert sich die verschiedene individuelle Lebenskraft in der Bildung der sekundären Kolonien; von den unzähligen Sporen, die im primären Rasen einer Agarkultur enthalten sind, besitzen gerade nur einzelne die Fähigkeit, wieder auszukeimen und eine neue Kolonie zu bilden, während alle übrigen ruhen bleiben.

Noch überraschender ist die Erscheinung, wonach die auf einer Kulturfläche aus verschiedenen Keimen entstandenen Kolonien so weit verschieden sein können, daß die einen reichlich Sporen bilden, die anderen aber gänzlich sporenlos bleiben oder erst nach langer Zeit und nur höchst spärlich Sporen tragen, was sich nicht nur durch die mikroskopische Untersuchung, sondern auch durch das makroskopische Aussehen der Kolonien zu erkennen gibt. Ich habe ein solches Verhalten an 2 Stämmen (I und III) beobachtet.

Daß also in letzterem Falle die aus gleicher Quelle stammenden Keime sich so verschieden verhielten, daß die Kolonien einzelner Keime ihr Ideal, die Sporenbildung, nicht erreichen konnten, läßt wohl auf eine diesen Keimen innewohnende Schwäche schließen, die zum Untergange der betreffenden Generationen führt.

Literatur¹⁾.

- 1) Schottelius, M., Beobachtung kernartiger Körper im Inneren von Spaltpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888.)
- 2) Klein, L., Botanische Bakterienstudien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. 1889.)
- 3) Frenzel, J., Der Zellkern und die Bakterienspore. (Biol. Centralbl. 1891.)
- 4) — —, Ueber den Bau und die Sporenbildung grüner Kaulquappenbacillen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892.)
- 5) Sjöbring, N., Ueber Kerne und Teilungen bei den Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
- 6) Klett, R., Beiträge zur Morphologie des Milzbrandbacillus. (Ref. Baumgartens Jahresber. 1894.)
- 7) Ilkewicz, W., Ueber die Kerne der Milzbrandsporen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. 1894.)
- 8) Bunge, R., Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. 1895.)
- 9) Löwit, M., Zur Morphologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896.)
- 10) Fischer, A., Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.
- 11) Meyer, A., Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien etc. (Flora. Bd. LXXXIV. 1897.)
- 12) Růžička, V., Zur Frage der inneren Struktur der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898.)
- 13) Zettnow, Romanowskis Färbung bei Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899.)
- 14) Meyer, A., Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
- 15) Feinberg, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900.)
- 16) Sata, A., Ueber die Fettbildung verschiedener Bakterien etc. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. 1900.)
- 17) Mühschlegel, Ueber die Bildung und den Bau der Bakteriensporen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900.)
- 18) Ascoli, G., Zur Morphologie der Bakterien und ihre Beziehung zur Virulenz. (Dtsche med. Wchschr. 1901. No. 20.)

1) Eine ausführlichere Literaturangabe findet man in den unter 14) und 17) angeführten Werken, sowie im Handbuche der pathogenen Mikroorganismen von Kollé und Wassermann. Jena (G. Fischer) 1902.

- 19) Nakanishi, K., Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.)
- 20) Krompecher, E., Untersuchungen über das Vorkommen metachromatischer Körnchen bei sporentragenden Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.)
- 21) Babes, V., Ueber isoliert färbbare Anteile von Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. Bd. V. 1888.)
- 22) Ernst, P., Ueber den Bacillus xerosis und seine Sporenbildung. (Ztschr. f. Hyg. Bd. IV. 1838.)
- 23) Burchard s. System der Bakterien von Migula. Jena 1897.

Erklärung der Abbildungen.

I. Tafel: Fig. 1—127.

II. Tafel: Fig. 128—252.

Tafel I.

Fig. 1—59: Bacillus anthracis, lebende Kulturteilchen in verdünnter Fuchsinlösung untersucht. Die gelben Kügelchen stellen die säurefesten Körper dar. Der Kern wurde bei der Zeichnung an manchen Zellen nicht beachtet.

- 1—3: 2-stündige Keimlinge mit Kernen, aus einer Bouillonkultur.
- 4: 2-zelliger Keimling; dünne, gemeinsame Scheidewand (2-stündige Bouillon).
- 5: 3-stündiger Keimling (Agar); an den Polen je eine Hälfte der Sporenschale tragend.
- 6: So wie voriger, aus der Schale schlüpfend.
- 7: 3 Stunden alte Agarkultur; die Konturen der Querscheidewände sind bereits doppelt.
- 8: Vom Rande einer 24-stündigen Agarkultur; rechts: verdickte Zellmembran; eine feine Scheidewand zieht durch den wandständigen Plasmahöcker (Kern).
- 9—10: 3-stündiger Agar; die junge Scheidewand zieht durch den Kern.
- 11: 3-tägiger Agar; die Querscheidewand zieht durch den Kern.
- 12: Vom Rande einer 24-stündigen Agarkultur; Anlagen der Querscheidewand, zentrales Plasma dunkel (Formolfuchsin).
- 13: So wie 12, Scheidewand bereits durchgehend.
- 14: 10-stündiger Agar; säurefeste Körperchen und Kerne.
- 15: 24-stündiger Agar; oberer Teil: gequollene Membran durch den Farbstoff schollig geschrumpft.
- 16: 6 $\frac{1}{2}$ -stündiger Agar; in den seitlichen Teilen der abgerundeten Polkuppe chromatische Substanz, die erste Anlage zur Sporenbildung.
- 17: 8-stündiger Agar; untere Zelle: sichelförmige, chromatische Substanz im fertilen Pole; obere Zelle: gegen die Mutterzelle bereits abgegrenzte Sporenanlage.
- 18: 8-stündiger Agar; die die Sporenanlage abgrenzende Scheidewand zieht durch den Kern.
- 19—22: 8—14-stündiger Agar; Kerne im Bereiche der chromatischen Polarsubstanz.
- 23: 14-stündiger Agar; eine breite Plasmabrücke scheidet die Sporenanlage von der Mutterzelle ab.
- 24: 14-stündiger Agar; eine gegen das übrige Zellplasma scharf abgegrenzte, kugelige Sporenanlage mit Kern (= Vorspore).
- 25: 21-stündiger Agar; chromatische Substanz an den Seitenwänden der fertilen Pole (Formolfuchsin).
- 26: 24-stündiger Agar; chromatische Substanz in den Winkeln der fertilen Pole.
- 27: 24-stündiger Agar; die chromatische Substanz bildet ein Diaphragma zwischen fertilem Pol und Mutterzelle.
- 28—30: 15-stündiger Agar; von der Mutterzelle noch nicht abgesonderte Sporenanlagen.
- 31: 15-stündiger Agar; abgegrenzte Sporenanlage mit Kern.
- 32: 15-stündiger Agar; die die Sporenanlage abgrenzende Scheidewand geht durch den Kern.
- 33: 21-stündiger Agar; oben: Beginn der Sporenanlage (chromatische Substanz); unten: Vorspore.
- 34: 24-stündiger Agar; Vorspore mit Kern.
- 35: 20-stündiger Agar; Vorspore in der Ecke des fertilen Pols.
- 36: 24-stündiger Agar; drei lange Zellen, zwischen der zweiten und dritten ein ganz schmales Glied mit Kern (höchst wahrscheinlich eine junge Vorspore); in der ersten Zelle eine Vorspore mit hellem Meniskus, in der zweiten eine durch das Diaphragma in Abgrenzung begriffene Sporenanlage.

- 37: 2-tägiger Agar; vom Pole losgelöste, freie Vorspore.
 38: So wie 37, mit Kern und hellem Meniskus.
 39: 2-tägiger Agar sekundäre Kolonie; Differenzierung der Vorspore in die eigentliche Spore und einen äußeren Hof, die Sporenschale.
 40—41: So wie 39; die Spore wird bräunlichgelb, glänzend und verliert an Färbbarkeit.
 42: 14-stündiger Agar; reife Spore mit breitem Hofe.
 43: 2-tägiger Agar, sekundäre Kolonie (20 Stunden in 2-proz. Osmiumsäure gelegen); reife Spore mit breiter Schale.
 44: So wie 22.
 45: 14-stündiger Agar; der Kern liegt der chromatischen Polarsubstanz knapp an.
 46: 2-tägiger Agar; unten reife, oben unreife Spore.
 47: Mehrere Tage alte Agarkultur; reife Spore mit geschrumpfter (ziemlich normaler) Schale.
 48—49: 21-stündiger Agar; Abgrenzung der Sporenanlage gegen die Mutterzelle.
 50: 14-stündiger Agar; scheibenförmige Sporenanlagen.
 51: 14-stündiger Agar; verschiedene Altersstadien von Vorsporen.
 52: 24-stündiger Agar; seltene Form (Aufreibung des fertilen Pola) der Sporenanlage.
 53: 2-tägiger Agar; freie Vorspore mit Kern.
 54: 24-stündiger Agar; Zelle mit Kern.
 55: 2-tägiger Agar; exzentrische Sporenanlage.
 56—57: 24-stündige Serumkultur; Sporenanlagen, Verdickung der Zellmembran auf der fertilen Polkuppe gut sichtbar.
 58: 24-stündiger Agar, sekundäre Kolonie; unregelmäßig gestaltete, dunkel gefärbte Schollen im Zellinhalte.
 59: 3-tägige Bouillonkultur; fein gekörntes Plasma (stark verdünnte Karbolfuchsinlösung).
Fig. 60—78: *Bacillus anthracis*, lebende Kulturteilchen in dünner Methylenblaulösung untersucht, die gelben Kügelchen bedeuten säurefeste Substanz.
 60—62: 1-stündige, 1-zellige Keimlinge mit dunkel gefärbter Rindenschicht und dunklem Zentralplasma (letzteres = Kern nach Nakanishi).
 63—66: Mehrzellige Keimlinge aus einer 2-stündigen Bouillonkultur; das „kernartige“ Zentralplasma hat zuweilen einen rötlichen Farbenton.
 67—69: 14-stündiger Agar; in 68 rechts dunkles Zentralplasma und dunkle Rindenschicht; im übrigen kleine Reste chromatischer Substanz und säurefeste Körperchen.
 70: 20-stündiger Agar; Vorspore mit dunklem Wandbelag und dunklem Zentralplasma.
 71: 20-stündiger Agar; noch nicht scharf abgegrenzte Sporenanlage.
 72—73: Freiliegende Vorsporen, 73 mit einem hellen Meniskus.
 74—75: 20-stündiger Agar; neben Zellen jüngeren Charakters (intensiv gefärbtes zentrales und peripherisches Plasma) ältere Zellen mit säurefesten Körperchen, ohne chromatisches Plasma, fast gänzlich ungefärbt und etwas dicker als jene jüngeren.
 76—77: 2-tägige Bouillon; Zentralplasma („kernartiges“ Gebilde), mit Teilung.
 78: 15-stündiger Agar; rechts eine Zelle mit Spore und säurefesten Körperchen. in den übrigen Zellen zentrale Plasmaschollen.
Fig. 79—83: *Bacillus tetani*.
 79—80: 2-tägiger Zuckeragar; dunkel gefärbte Rindenschicht und Zentralplasma (in verdünnter Methylenblaulösung).
 81—83: 5-tägiger Zuckeragar; Vorspore und Beginn der definitiven Spore in der Vorspore; Zentralplasma der Mutterzelle und junge Spore dunkel gefärbt (nach Nakanishis Verfahren untersucht).
Fig. 84—127: *Bacillus anthracis* im Trockenpräparate, mit Anilinwassergentiana gefärbt, mit 1-proz. Essigsäure, eventuell nachher noch mit Alkohol, entfärbt.
 84: 1-tägiger Agar; oben eine halbkugelige Sporenanlage; die hellen Flecke sind säurefeste Körper.
 85—86: 1-tägiger Agar; Sporenanlage und unreife Spore.
 87: Fast reife Spore.
 88—90: So wie 85—86.
 91: 2-tägiger Agar; die hellen Flecken sind säurefeste Körper mit metachromatischen Zentralkörperchen.
 92—93: 1-tägiger Agar; in der oberen Hälfte je einer Zelle eine unreife Spore, in der unteren ein säurefester Körper mit bzw. ohne metachromatisches Zentralkörperchen.
 94—95: So wie vorige, jedoch mit reifen Sporen.

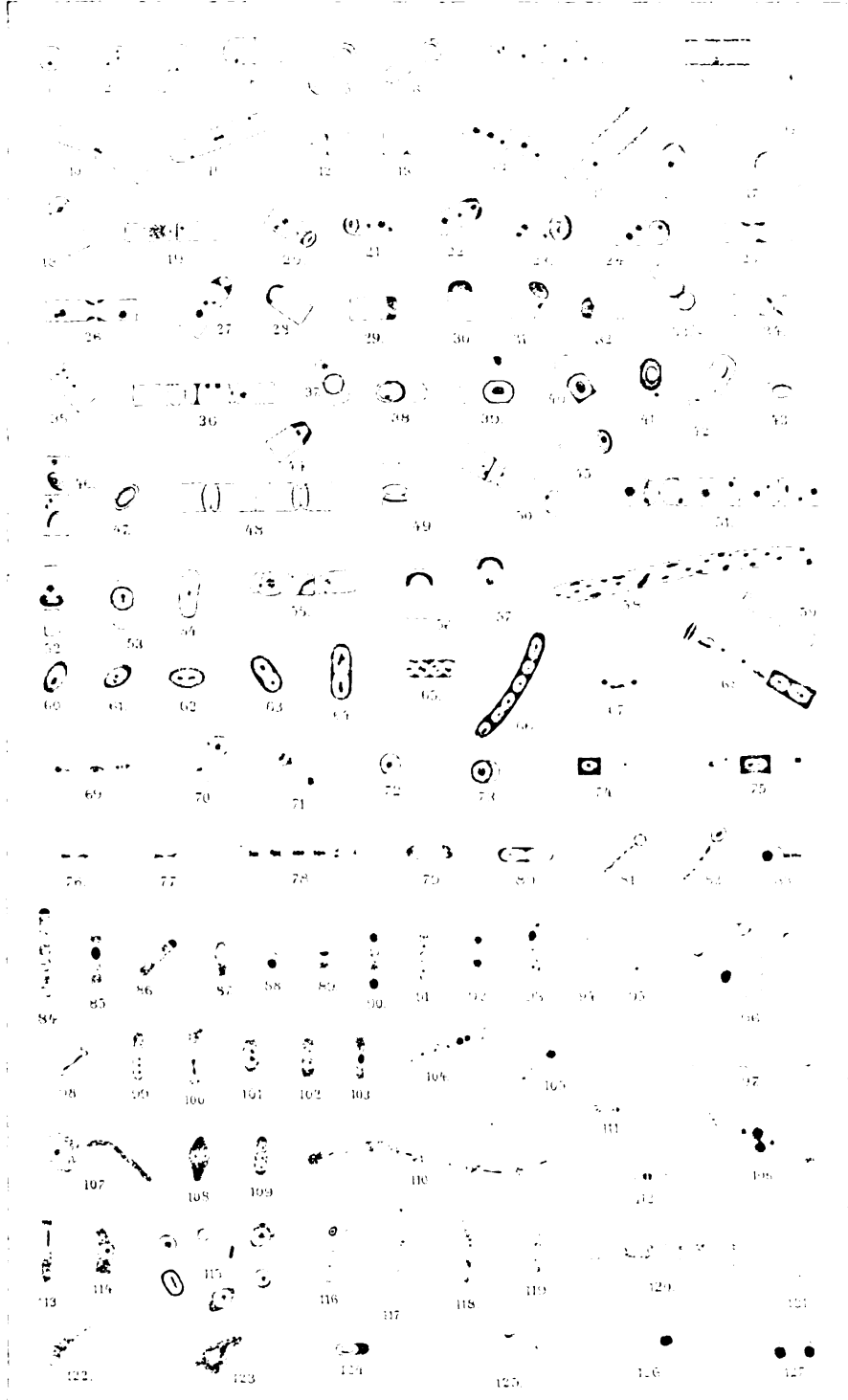
- 96: Verschiedene Formen der Sporen; links oben zwei unreife (gefärbte) Sporen mit hellem Hofe (Vorsporen).
 97: 12-tägiger Agar; freie Vorsporen mit unebenen Umrissen.
 98—110: 2—3-tägiger Agar, sekundäre Kolonien; verschiedene, für Bacillen sekundärer Kolonien charakteristische Formen mit metachromatischer Substanz verschiedener Gestalt und Größe.
 111—112: 3-tägiger Agar, Zellteilung durch den säurefesten Körper und seinen metachromatischen Kern hindurch; eine ähnliche Teilung auch bei 104.
 113—114: 8-tägiger Agar; säurefeste Körper mit metachromatischem Kern.
 115: Aus mehrtagigen Agarkulturen; freie oder noch von Zellplasma umgebene säurefeste Körper, fast alle mit metachromatischem Kern.
 116—117: 3—5-tägiger Agar; geschrumpftes Plasma mit säurefestem Körperchen, deutlich hervortretende Zellmembran.
 118: 26-stündiger Agar, sekundäre Kolonie; Zellmembran etwas verdickt.
 119: 2-tägiger Agar; Membran etwas gequollen, nach außen verschwommen.
 120: 5-tägiger Agar; Membran stark gequollen.
 121: Eine junge und zwei ältere Querscheidewände.
 122: 7-tägiger Agar, sekundäre Kolonie; gequollene Zelle mit säurefestem Körper und verdickter Membran.
 123: So wie 122, aber ohne Membran.
 124: 3-tägiger Agar; reife Spore, steriler Pol noch intensiv gefärbt.
 125: 5 Monate alte Agarkultur; gequollene Vorspore mit Kern.
 126: So wie 125; gequollener Bacillus mit Sporenanlage.
 127: Frei gelegene Vorsporen mit Meniskus.

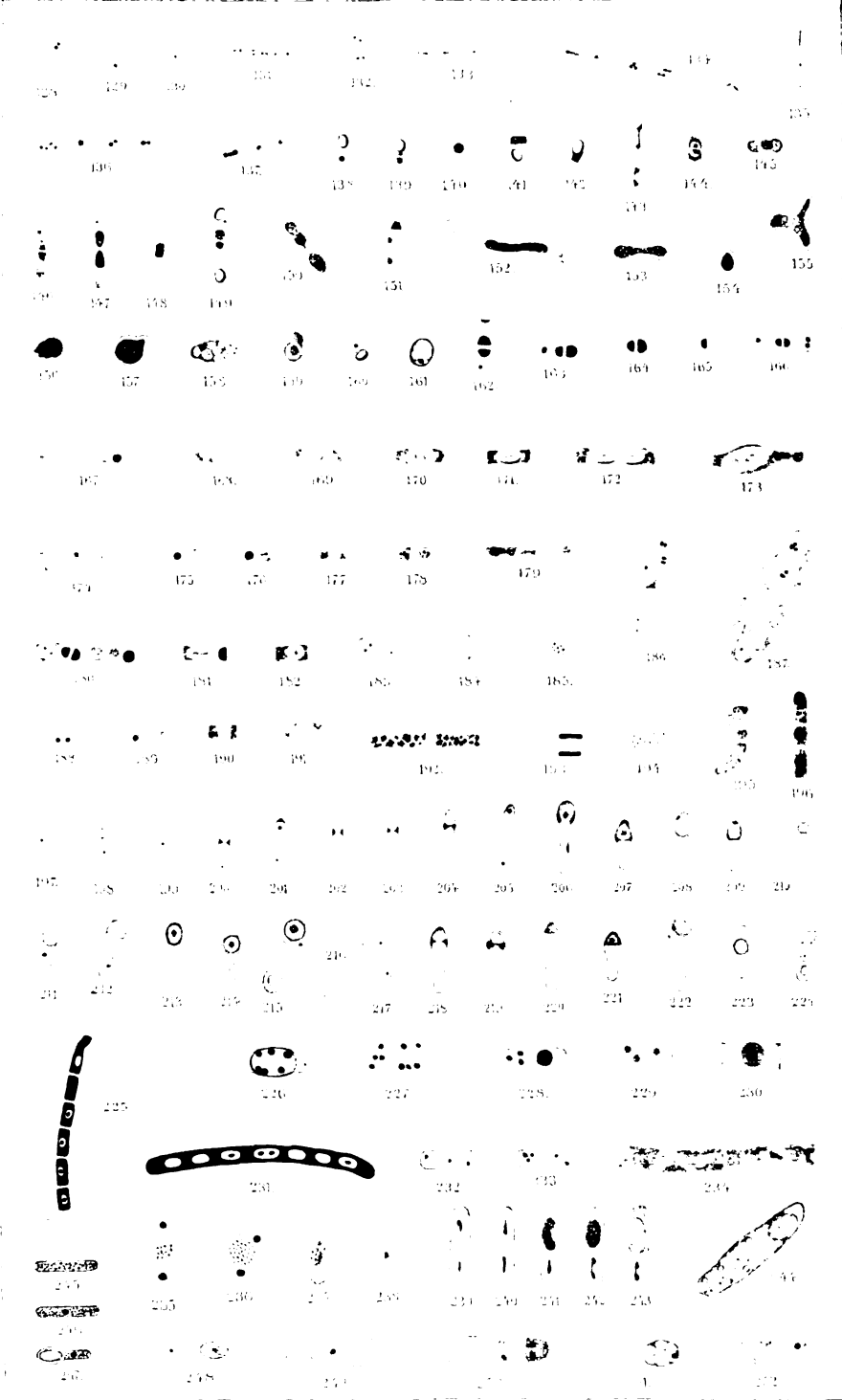
Tafel II.

Fig. 128—156: Bacillus anthracis; Färbung auf säurefeste Substanz (Färbung mittels erwärmtem Karbolfuchsin, Entfärbung mittels 5-proz. Schwefelsäure, Nachfärbung mit Bismarckbraun).

- 128—130: 3-stündige Bouillon.
 131—132: 3-tägiger Agar eines abgeschwächten Stammes.
 133—137: 15-stündige Agarkulturen.
 138—142: 2—5-tägiger Agar; säurefeste Körper, zum Teil neben reifen Sporen.
 143—144: 5-tägiger Agar; Teilung der Zelle begleitet von der Teilung des säurefesten Körpers.
 145—146: 5-tägige Agarkultur.
 147—148: 3—6-tägige Kartoffelkultur.
 149: 26-stündiger Agar; in den beiden mittleren Zellen keine Sporen, aber große säurefeste Körper.
 150: 5-tägiger Agar; sekundäre Kolonie.
 151—152: 6-tägige Kartoffelkultur.
 153—155: 4-tägiger Agar; säurefeste Schollen verschiedener Gestalt mit einer hellen, breiten Kontur (Zellmembran, deren äußere Grenzlinie im Präparate farblos erscheint).
 156—157: So wie vorige, aber mit schwarzroten Schollen; 156 ohne glänzende Hülle.
 158: 4-tägiger Agar; gequollene, in Auflösung begriffene Zelle mit Spore und mit zahlreichen säurefesten Pünktchen.
 159: 4-tägiger Agar, sekundäre Kolonie; säurefester Körper, von Plasma umgeben, ohne Membran.
 160: 4-tägiger Agar; Spore und säurefestes Körnchen.
 161: 4-tägiger Agar; vakuolierte Zelle.
 162—166: 4-tägiger Agar eines abgeschwächten Stammes; die braunen, halbkugligen Gebilde sind Sporenanlagen, die einzeln oder paarweise auch freiliegend zu sehen sind.
Fig. 167—196: Bacillus anthracis; Trockenpräparate mit Karbolmethylblau einige Minuten (eventuell wenig erwärmt) gefärbt, mit Wasser gewaschen behufs Darstellung der metachromatischen Substanz.
 167: 20-stündiger Agar; links: heller (= säurefester) Körper mit metachromatischem Zentrum, rechts: unreife Spore (dunkelblau) und stäbchenförmiges metachromatisches Körperchen.
 168: 8-tägiger Agar, sekundäre Kolonie; drei metachromatische Körperchen.
 169—170: 6-tägige Kartoffel; knäuelartige, nicht homogene, metachromatische Substanz; von derselben Kulturstelle wie Fig. 147 und 152.
 171—172: 6—15-tägige Kartoffel; sporenhähnliche, säurefeste Körper mit stäbchenförmigem, metachromatischem Kern.

- 173—174: 15-tägige Kartoffel; große metachromatische Körper, in 174 ein doppelter (geteilter).
- 175—176: 2-tägiger Agar; links unreife Spore (dunkelblau), rechts metachromatisches Körperchen.
- 177—178: 26-stündiger Agar; körnige (in 177 trefförmige), metachromatische Substanz.
- 179: 3-tägiger Agar, abgeschwächter Stamm; knäuelförmiger, eingeschnürter metachromatischer Körper.
- 180: 2-tägiger Agar, abgeschwächter Stamm; Sporenanlagen (dunkelblau) und metachromatischer Körper.
- 181: So wie 180; links stäbchenförmiger, metachromatischer Körper, rechts Sporenanlage (dunkelblau).
- 182—183: So wie 167—168.
- 184: Frei gelegene, säurefeste Körper mit metachromatischem Kern.
- 185: 15-tägige Bouillon; gequollene Zelle mit metachromatischen Körnchen.
- 186: 1-tägiger Agar, abgeschwächter Stamm; stark gequollene Zelle mit verschieden gestalteten, auch diplokokkenartigen metachromatischen Körperchen.
- 187: 3-tägiger Agar, abgeschwächter Stamm, samt Membran; stark gequollene Zellen mit gewöhnlicher und umgekehrter Metachromasie (nämlich Körnchen blau, Plasma rot).
- 188: 3-tägige Kartoffel; Babes-Ernstsche Körnchen.
- 189—190: 15-tägige Kartoffel; Babes-Ernstsche Körnchen neben metachromatischem Körper.
- 191: 10-stündiger Agar; in Teilung begriffener, säurefester Körper (ungefärbt) ohne metachromatischen Kern.
- 192: 15-tägige Bouillon (Färbung mit Loefflerschem alkalischen Methylenblau); intensiv gefärbte Plasmaschollen.
- 193: 15-tägige Bouillon; gequollene Membran schwarzblau gefärbt.
- 194: 15-tägige Bouillon; unregelmäßig geformter Körper mit breitem, hellem Saum und zahlreichen metachromatischen Körnchen (entspricht den unter Fig. 153—155 dargestellten Körpern).
- 195: 26-stündiger Agar, sekundäre Kolonie; gequollene Zellen mit metachromatischen Körnchen.
- 196: 2-tägiger Agar, abgeschwächter Stamm; unreife Sporen.
- Fig. 197—216: Bacillus tetani**, aus 2—4-tägigen Kulturen in Zuckeragar, lebend in dünne Fuchsinlösung gebracht.
- 197—199: Junge Zellen mit Kernen.
- 200: Plasmavorsprünge an den Seitenwänden, wahrscheinlich Anlagen einer Querscheidewand.
- 201: Chromatisches Plasma und Kern im fertilen Pole (vergl. Fig. 20, 21, 45).
- 202—203: Chromatische Vorsprünge im fertilen Pole (vergl. Fig. 16, 25, 26).
- 204: Chromatischer Ring (Diaphragma) zwischen fertilem Pole und Mutterzelle (vergl. Fig. 27, 36).
- 205: Sporenanlage mit Kern, gegen die Mutterzelle noch nicht abgegrenzt (vergl. Fig. 22, 44).
- 206—207: Schwellung der Sporenanlage und beginnende Abgrenzung gegen die Mutterzelle durch das chromatische Diaphragma.
- 208—212: Vosporen in verschiedenen Stadien, mit und ohne Kern (vergl. Fig. 24, 34, 37).
- 213—214: Erscheinen der definitiven Spore im Zentrum der Vospore (vergl. Fig. 39).
- 215: Reife Spore mit Schale (vergl. Fig. 41—43).
- 216: So wie 214; die Ablösung der Vospore von der Wand der Mutterzelle deutlich sichtbar.
- Fig. 217—224: Ein neuer, sporenbildender, aeröber Bacillus**; 3—5-tägige Agarkultur; Untersuchung wie bei vorigen.
- 217: Junge Zelle mit Kernen.
- 218—219: Chromatischer Ring und Diaphragma im fertilen Pole.
- 220—221: Sporenanlagen mit Kern.
- 222: Scharf konturierte Sporenanlage (Vospore), die Grenzlinie zwischen ihr und Mutterzelle zieht durch ein dunkelrotes Körnchen (vergl. Fig. 18, 32).
- 223: In der Mutterzelle frei gelegene Vospore.
- 224: Reife Spore mit Schale, noch in der Mutterzelle liegend.
- Fig. 225—252: Bilder aus der Literatur** über den Bau des Milzbrandbacillus und die Sporenbildung.
- 225: Milzbrandbacillen nach Löwit (vergl. Fig. 91, 109, 110).





- 226: Sjöbring, Milzbrandbacillus mit „Kern“, in diesem schwarzblaue Körnchen.
227: — —, Milzbrandbacillus (Magentarötfärbung).
128—229: Bunge, Erdebacillus mit „Vorsporen“ (rot), in 228 eine Spore (blau).
230: — —, „Vorspore“ mit schwarzem Zentrum im Milzbrandbacillus (vergl. Fig. 157).
231: Ilkewicz, „Sporen“ des Milzbrandbacillus mit und ohne Kern (vergl. Fig. 110).
232—233: Rázička, Milzbrandbacillen aus einer 1-tägigen Agarkultur.
234: Zettnow, Milzbrandbacillus nach Romanowskis Färbung.
235—238: Krompacher, Milzbrandbacillen mit metachromatischen Körperchen, in 235 und 236 auch Babes-Ernstsche Körnchen (vergl. Fig. 167 und mehrere folgende).
239—243: Entwicklung der Spore beim Milzbrandbacillus nach Nakanishi, und zwar: 239: „Beginn der Sporenbildung“; 240: „Sporenanlage“; 241 und 242: „Junge Sporen“; 243: „fertige Spore“.
244: Frenzel, Kaulquappenbacillus mit ovalem „Sporenkern“.
245—247: Klein, Bacillus sessilis, mit und ohne Spore, neben der Spore noch ein großes Körnchen.
248: Meyer, A., Bacillus asterosporus; rechts „Sporenvakuole“ mit Kern.
249: — —, Bacillus tumescens, reife Spore.
250: — —, „Sporenvakuole (dunkelrot).“
251: Fischer, A., Milzbrandstäbchen mit jungem „Sporenkörper“, ca. 20 Stunden alte Kultur.
252: — —, Milzbrandstäbchen, 12 Stunden alte Kultur (Jodalkohol, Delaf. Hämatoxylin).

Nachdruck verboten.

Bei träge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien
(Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

II. Zur Aetiologie des Gasbrandes.

Von Dr. Anton Ghon und weiland Dr. Milan Sachs.

(Zweiter Teil.)

Im ersten Teile dieser Arbeit haben wir darauf hingewiesen, daß der in unserem Falle gefundene Bacillus Merkmale aufweise, welche dem in der Literatur als „Bacillus des malignen Oedems“ beschriebenen anaëroben, beweglichen Bakterium zukommen. Studiert man aber die Literatur über diesen Bacillentypus eingehender, so findet man — P. Albrecht¹⁾ hat darauf bereits in nachdrücklichster Weise aufmerksam gemacht — daß unter den Autoren mancherlei Widersprüche bestehen, die es nicht erlauben, diesen Bacillus als einen einheitlichen anzusehen.

Wie wir schon im ersten Teile unserer Arbeit hervorgehoben haben, ginge es daher nicht an, den von uns isolierten Bacillus ohne weiteres mit dem als „Bacillus des malignen Oedems“ bezeichneten zu identifizieren. Die Widersprüche in der Literatur über dieses Bakterium sind vielmehr derartige, daß es uns notwendig erscheint, genauer auf die einschlägige Literatur einzugehen und einzeln die als „Bacillen des malignen Oedems“ beschriebenen Mikroorganismen mit dem von uns isolierten Bacillus zu vergleichen.

1) Albrecht, P., Ueber Infektion mit gasbildenden Bakterien. (Arch. f. klin. Chirurgie. Bd. LXVII.)

Der besseren Uebersicht und vor allem der Einfachheit halber werden wir die Arbeiten in chronologischer Reihenfolge besprechen und beginnen deshalb mit den in dieser Frage grundlegenden Arbeiten von Pasteur, R. Koch und Gaffky:

Aus den Mitteilungen Pasteurs im Vereine mit Joubert¹⁾ und mit Joubert und Chamberland²⁾ sowie aus den Diskussionen Pasteurs mit Colin³⁾ und endlich aus dem Berichte Villemains⁴⁾, den dieser im Namen der zur Prüfung einiger Experimente Pasteurs von der Akademie der Medizin eingesetzten Spezialkommission erstattete, ist über den „Vibrion septique“ folgendes zu entnehmen:

Bei ihren Arbeiten über den Erreger des Milzbrandes experimentierten Pasteur und Joubert auch mit dem Blute von Tieren (Hammel, Pferd, Rind), welches diesen verschieden lange Zeit nach ihrem Tode entnommen war. Dabei erhielten Pasteur und Joubert bei Meerschweinchen, die nach der Inokulation von Blut eines 16 Stunden lang toten Pferdes und eines mehr als 48 Stunden lang toten Rindes eingegangen waren, folgendes Sektionsbild: Alle Muskeln des Abdomens und der Extremitäten lebhaft „entzündet“; spärlich Gasbildung, besonders in den Achselhöhlen („Ça et là, particulièrement aux aisselles des poches de gaz“)⁵⁾; Leber und Lungen „entfärbt“; Milz normal, aber häufig zerfließend („diffuente“); die „entzündeten“ Muskeln voll von „vibrions mobiles anaérobies et ferments“.

Aehnlich wird der Effekt der Injektion „septischen Blutes“ an Meerschweinchen auch von der Kommission der Akademie der Medizin (Referent: Villemain) geschildert, in deren Gegenwart Pasteur seine Versuche wiederholte: Ausgedehnte Rötung aller Gewebe weit über das Abdomen und den Thorax; die stark gefärbten („fortement colorés“) Muskeln morsch; der der veränderten Bauchwandung anliegende Darm „entzündet“; alle Gewebe in der Umgebung der Injektionsstelle ödematös, auf ihrer Schnittfläche reichliche Flüssigkeit.

Die bei den geschilderten Veränderungen beobachteten beweglichen Vibrationen verlieren nach Pasteur bei Berührung mit Sauerstoff ihre Beweglichkeit und verwandeln sich in „corpuscules germes“, — Sporen, welche im Meerschweinchenkörper oder in passender Flüssigkeit wieder zu beweglichen fadenförmigen Vibrationen auswachsen. Das damit geimpfte Tier verende mit den früher angeführten Erscheinungen.

In das Blut der Versuchstiere gelange der Vibrio aber erst in den letzten Stunden des Lebens oder nach dem Tode.

Dieser Vibrio stellt nach Pasteur einen der „vibrions de la putrefaction“ dar und findet sich überall, auch in dem Inhalte des Verdauungskanales vor. Pasteur nennt ihn in seiner zweiten, gemeinsam mit Joubert und Chamberland veröffentlichten Arbeit „Vibrion septique“ und die durch ihn experimentell hervorgerufene Erkrankung „Septicémie“, hält aber in dieser Arbeit den strengen Beweis, daß dieser Mikroorganismus auch tatsächlich der Erreger der „Septicémie“ sei, erst dann für

1) Pasteur et Joubert, Charbon et septicémie. (Bull. de l'académie de méd. Séance. 1877. 17 juillet.)

2) Pasteur, Joubert et Chamberland, La théorie des germes et ses applications à la médec. et à la chirurgie. (Compt. rend. de séance de l'académie des sciences. 1878. 29 avril.)

3) Bull. de l'académie de méd. Séance. 1881. 1 fév.

4) Bull. de l'académie de méd. Séance. 1881. 8 fév.

5) Daß die Gase übelriechend waren — wie von vielen Autoren zitiert wird — konnten wir nirgends vermerkt finden!

erbracht, wenn es gelänge, auch mit dem in fortlaufender Verdünnung gezüchteten *Vibrio* dasselbe Krankheitsbild zu erzeugen. Während nun diese Methode, die als „la methode des cultures successives“ bezeichnet wird, für den Milzbrandbacillus nach Pasteur und Joubert anstandslos ein positives Resultat ergeben hatte, schlugen zunächst alle Züchtungsversuche mit dem „*Vibrium septique*“ fehl. Erst als die Autoren die Möglichkeit in Betracht zogen, daß der „*Vibrium septique*“ ein exklusiv anaërober Bacillus sein könnte, der durch den Luftsauerstoff und den in den Kulturflüssigkeiten gelösten Sauerstoff getötet werde, wurde es ihnen möglich, durch Züchtung im luftleeren Raume oder in reiner Kohlensäureatmosphäre die Entwicklung des „*Vibrium septique*“ zu erreichen.

Deshalb verlor Flüssigkeit, selbst wenn sie reichhaltig an *Vibrium septique* und sehr virulent war — in dünner Schicht der Luft ausgesetzt — alle Virulenz, die beweglichen Stäbchen zerfielen und verschwanden. Hatten sich jedoch die Vibrionen in ihre Keime („germes“ i. e. Sporen) verwandelt, so blieben diese auch bei Berührung mit der Luft erhalten, geeignet für neue Kulturen und neue Inokulationen. Diese Umwandlung der Vibrionen in Sporen erfolge in der Flüssigkeit, nur wenn diese in dicker Schicht der Luft ausgesetzt werde und in der Tiefe, während in den oberflächlichen Schichten die Vibrionen absterben und verschwinden.

Diese grundlegenden Arbeiten Pasteurs und seiner Mitarbeiter berücksichtigte R. Koch¹⁾ eingehendst bei seinen Studien über die Milzbrandätiologie und teilte darüber folgendes mit:

Durch Injektion von Faulflüssigkeiten oder anderer geeigneter Substanzen erhielt R. Koch bei seinen Versuchstieren ein Krankheitsbild, ähnlich dem von Pasteur bei der „*Septicémie*“ geschilderten. Diese Erkrankung betrachtete R. Koch einerseits als Wirkung verschiedener pathogener Mikroorganismen, andererseits als Intoxikation infolge von Resorption fauliger Substanzen. Die dabei beobachteten Veränderungen bestanden in Durchtränkung des subkutanen Gewebes und der oberflächlichen Muskulatur mit einer schmutzig-roten jauchigen Flüssigkeit im Bereiche der Injektionsstelle und ihrer Umgebung, zugleich verbunden mit geringerer oder stärkerer Gasbildung. Die Jauche enthielt verschiedene Bakterien: Mikrokokken und verschiedene Bacillen. Die Milz blieb klein, im Blute fanden sich wenig und verschiedene Bakterienformen. Durch subkutane Uebertragung einer größeren Quantität der Jauche entstand wieder derselbe Prozeß: „Ein Gemisch von Infektion und Intoxikation“. Wurden jedoch nur geringe Mengen des Materiales zur Weiterimpfung verwendet, so war das Ergebnis ein anderes: Die das subkutane Gewebe durchsetzende Flüssigkeit war „nicht mehr von jauchiger Beschaffenheit, sie besteht vielmehr aus einem schwach rötlich gefärbten Serum ohne Gestank und ohne Gasentwicklung und enthält nur eine bestimmte Form von Bacillen, welche sich als in Größe und Form den Milzbrandbacillen fast gleiche Stäbchen präsentieren und ohne Hilfe der feineren Präparations- und Färbemethoden von diesem nicht mit Sicherheit zu unterscheiden sind. Gewöhnlich sind sie unbeweglich und nur hin und wieder gewahrt man an dem einen oder anderen Stäbchen eine

1) Koch, R., Ueber die Aetiologie des Milzbrandes. (Mitteil. a. d. kais. Gesundheitsamte in Berlin. Bd. I. 1881.)

wackelnde, im Beginn der Beobachtung selten einmal eine langsam schlängelnde Bewegung“, die inneren Organe der Versuchstiere zeigten keine erheblichen Veränderungen, die Milz war meist vergrößert, dunkler, die Lungen blaßgraurot.

Die Bacillen waren im Blute der gefallenen Tiere bald vorhanden, bald fehlten sie, niemals vermißte man sie jedoch auf den serösen Ueberzügen der Brust- und Bauchorgane.

Bei Mäusen war das subkutane Oedem gering, die Milz fast immer stark vergrößert. Die Bacillen fanden sich bei diesen Tieren reichlich im Blute und in den inneren Organen.

Da bei dieser Erkrankung das subkutane Gewebe den eigentlichen „Sitz der Vermehrung der Bacillen“ bildete, so wendete sich Koch gegen die Bezeichnung „Septicémie“ und schlug als passendste Bezeichnung für diese experimentell erzeugte Krankheit den Namen „malignes Oedem“ vor.

Zur sicheren Erzielung einer derartigen Infektion bei den höchst empfänglichen Meerschweinchen sei es jedoch nötig, Oedembacillen in das subkutane Gewebe einzubringen, wobei das Corium vollständig durchtrennt sein müsse. Das Einbringen von Oedembacillen in eine Hautwunde allein genüge nicht zum Zustandekommen einer Infektion.

Die Beweglichkeit der Bacillen bezeichnet R. Koch als unsicheres differentialdiagnostisches Merkmal gegenüber den Milzbrandbacillen und führt als entscheidenden Unterschied nur die Formverschiedenheit an, der zufolge — wie auch aus den beigegebenen Abbildungen hervorgeht — die Oedembacillen schmaler seien als die Milzbrandbacillen, die außerdem eine eigentümliche Gliederung aufweisen.

R. Koch identifizierte die von ihm beschriebenen Oedembacillen mit den „Vibrions septiques“ Pasteurs.

Zu gleicher Zeit teilte auch R. Kochs Schüler, Gaffky¹⁾, einiges über Untersuchungen mit, welche die „Septicémie“ Pasteurs zum Gegenstande hatten. Gaffky erzeugte durch Verimpfung von Gartenerde, die, längere Zeit aufbewahrt, „keine lebensfähigen Mikrokokken mehr, sondern nur noch die resistenten Bacillensporen enthielt“, an Meerschweinchen und Kaninchen eine Krankheit, die recht bald zum Tode der Versuchstiere führte und deren anatomische Veränderungen „durchaus den Schilderungen Pasteurs bei der „Septicémie“ durch die „Vibrions septiques“ entsprachen“. Es fand sich bei der Sektion eine von der Injektionsstelle ausgehende, weit ausgebreitete Durchtränkung des subkutanen Gewebes mit klarer rötlicher Flüssigkeit, in der „die beweglichen, an den Enden schwach abgerundeten, zum Teil zu längeren Scheinfäden ausgewachsenen Bacillen, die „Vibrions septiques“, nachgewiesen werden konnten“. „Nicht selten bemerkt man auch Gasbläschen im Unterhautfettgewebe“. Die Bauch- und Brustmuskulatur der Tiere war „serös durchtränkt und gerötet“, die Milz mäßig vergrößert, weich, dunkel blaurötlich gefärbt, die übrigen Bauchorgane makroskopisch ohne besondere Veränderungen, die Lungen äußerlich blaßgrau, auf dem Durchschnitte graurot.

Im Herzblute fand Gaffky in Uebereinstimmung mit Pasteur unmittelbar post mortem keine oder nur vereinzelte Bacillen; dieselben

1) Gaffky, Experimentell erzeugte Septikämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und akkommodative Züchtung. (Mitteil. a. d. kais. Gesundheitsamte in Berlin. Bd. I. 1881.)

vermehrten sich jedoch nach dem Tode sehr rasch. Dagegen dringen sie nach der Ansicht Gaffkys noch *intra vitam* vermöge ihrer Beweglichkeit und unterstützt durch die ödematöse Durchtränkung der Gewebe vom subkutanen Oedem aus in die Organe der Brust- und Bauchhöhle ein.

Bezüglich der Gasbläschen, die nicht immer vorhanden sein sollen, läßt es Gaffky unentschieden, ob ihre Anwesenheit einer Verunreinigung mit anderen Bakterien zuzuschreiben sei oder nicht.

Wie R. Koch, fand auch Gaffky, daß es für das sichere Gelingen der Infektion bei Meerschweinchen und Kaninchen nötig sei, die bacillenhaltige Flüssigkeit in das Unterhautzellgewebe zu injizieren, desgleichen, daß bei Mäusen die Bacillen regelmäßig schon unmittelbar nach dem Tode im Blute zu finden seien.

Auf Grund seiner Untersuchungen identifizierte Gaffky die erwähnten Bacillen mit den „Vibrions septiques“ — den Erregern der „Septicémie“ Pasteurs — wendete sich aber gegen die Auffassung dieser Krankheit als Septicémie, schloß sich vielmehr der Auffassung R. Kochs an und acceptierte den von letzterem dafür vorgeschlagenen Namen „malignes Oedem“.

Die Züchtung der Bacillen gelang Gaffky in einer Reihe von Versuchen nicht. Sie vermehrten sich jedoch lebhaft, als ein Stück Leber, das von den Bacillen durchsetzt war, in das Innere einer gekochten Kartoffel gebracht wurde (bei ca. 38° C), ohne Sporen zu bilden, und konnten davon in eine zweite Kartoffel mit Erfolg übertragen werden. Die Einverleibung eines linsengroßen Stückchens dieser Kartoffel unter die Bauchhaut eines Meerschweinchens bewirkte den Tod des Tieres an „exquisitem malignen Oedem“.

Das häufige Vorkommen der Erreger des malignen Oedems im Blute gefallener Pferde erklärte nach Gaffky R. Koch damit, daß diese Tiere ihrer Größe wegen nach dem Tode längere Zeit hindurch ihre Körpertemperatur bewahren als die kleinen Tiere. Es können deshalb die Bacillen aus dem Darme, wo sie aus Sporen auswachsen, in den Körper und in das Blut eindringen.

Zum Beweise der Identität des „Bacillus des malignen Oedems“ mit dem „Vibrion septique“ Pasteurs teilte Gaffky am Schlusse seiner Ausführungen noch folgendes Experiment mit: Ein gesundes erdrosseltes Meerschweinchen wurde 24 Stunden lang bei 38—40° C gehalten. Nach dieser Zeit war der Körper stark aufgetrieben, aus den natürlichen Oeffnungen entleerte sich gashaltige, übelriechende Flüssigkeit. In dieser fanden sich fast ausschließlich bewegliche Bacillen, die sich in nichts von den Bacillen des malignen Oedems unterschieden. Dieselben Bacillen waren auch in der gashaltigen Flüssigkeit, die das subkutane Gewebe durchsetzte, nachweisbar, sowie im Blute, das gleichfalls Gasblasen enthielt. Das Gas brannte mit bläulicher, nicht leuchtender Flamme. Ein Meerschweinchen, welches einen Tropfen der bacillenhaltigen Flüssigkeit eingimpft erhielt, verendete an „malignem Oedem“. Dieses Tier ließ jedoch Gasentwicklung vermissen, desgleichen das von diesem eingimpfte folgende Meerschweinchen.

Soviel über die Originalarbeiten von Pasteur, R. Koch und Gaffky. Wir haben sie aus dem Grunde ausführlicher mitgeteilt, weil sie die grundlegenden Forschungen über den Erreger des sogenannten „malignen Oedems“ bilden und weil nur die genaueste Kenntnis dieser Arbeiten es gestattet, sich in der Frage über den „Bacillus des malignen

Oedems“, die derzeit zweifelsohne eine arg verworrene genannt werden muß, wenigstens einigermaßen zurechtzufinden.

Aus diesen grundlegenden Arbeiten geht zunächst hervor, daß der von R. Koch und Gaffky beschriebene „Bacillus des malignen Oedems“ mit dem „Vibrium septique“ Pasteurs identifiziert wurde, demnach einen artenheitlichen Mikroorganismus darstellt. Es sind nach R. Koch Bacillen, etwas schmaler als Milzbrandbacillen, mit abgerundeten Enden, die auch zu längeren Fäden auswachsen können. Pasteur spricht von fadenförmigen Vibrionen. Die Bacillen sind obligat anaërob. Pasteur und seinen Mitarbeitern gelang die Kultivierung des Bacillus in flüssigen Nährböden unter Kohlensäureatmosphäre und im luftleeren Raume, Gaffky in der Kartoffel nach Anwendung der „Ueberschichtungsmethode“. Eine einwandfreie Reinkultivierung des Bacillus wird von den Autoren jedoch nicht angegeben. Die Möglichkeit einer solchen kann unserer Meinung nach bei Pasteur zugegeben werden, wenn er seine Methode „des cultures successives“ auch für den „Vibrium septique“ angewendet hat, was aber nirgends in seinen Mitteilungen klar ausgesprochen wird.

Die Bacillen sind nach Pasteur und Gaffky beweglich. R. Koch fand nur selten und nur im Beginne der Beobachtung schlängelnde Bewegung. Dieser Widerspruch erscheint uns bedeutungslos und läßt sich vielleicht damit erklären, daß die Bacillen als anaërobe Bakterien bei Einwirkung des Luftsauerstoffes leicht ihre Beweglichkeit einbüßten, wie dies bereits Pasteur festgestellt hatte und wie dies von jedem, der sich mit anaëroben Bakterien beschäftigt, erfahren werden kann.

Sporenbildung der Bacillen, ihre große Verbreitung, unter anderem auch ihr Vorkommen im Darmkanal wird von den genannten Autoren übereinstimmend angegeben.

Bei geeigneter Inokulation sind die „Bacillen des malignen Oedems“ für Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse pathogen. Der pathologisch-anatomische Befund der erstgenannten Tiergattung, die sich als besonders empfänglich erweist, ist hauptsächlich charakterisiert durch reichliche Durchtränkung des subkutanen Gewebes und der darunter befindlichen Muskulatur mit einer serösen, blutig gefärbten Flüssigkeit, in der die Bacillen in reichlicher Menge nachweisbar waren. Hier und dort fand Pasteur auch Gasbläschen in der Flüssigkeit, während R. Koch Gasbildung nicht beobachten konnte, wenn es sich anscheinend um eine Reininfektion handelte und auch Gaffky geneigt war, das Auftreten von Gasbläschen in manchen seiner Versuche „Verunreinigungen“ zuzuschreiben.

Während des Lebens der Tiere dringen die Bacillen nicht in die Blutbahn, nach dem Tode hingegen vermehren sie sich rasch und sind dann reichlich im Blute anzutreffen.

Bei Mäusen fand Gaffky auch unmittelbar nach dem Tode konstant Bacillen im Blute.

Sowohl der französische als auch die beiden deutschen Forscher legten in den eben mitgeteilten Arbeiten das Hauptgewicht auf die experimentell-pathologische Seite ihrer Untersuchungen. Der Grund hierfür lag darin, daß die Untersuchungen dieser Autoren vornehmlich allgemeinere bakteriologische und pathologische Fragen zum Gegenstande hatten. Eine eingehendere Erforschung der beschriebenen Bacillen war wegen der Schwierigkeiten, die die Züchtung dieser Bakterien an und für sich bereitete, ausgeschlossen, ja auch die Reinkultivierung derselben

mit den damals gebräuchlichen Methoden kaum gewährleistet. Es mußte sich die Beschreibung dieser Bakterienart vielmehr auf das Aussehen im Tierkörper, auf die pathologisch-anatomischen Befunde bei Tieren und auf das Verhalten in flüssigen Nährmedien beschränken. Nur dem großen Scharfsinne der genannten Forscher haben wir es zuzuschreiben, daß trotz der vielen Schwierigkeiten so viele bemerkenswerte Resultate zutage gefördert wurden, deren Richtigkeit auch jetzt noch unzweifelhaft feststeht.

Wenn wir auch heutzutage infolge der Erweiterung unserer Kenntnisse die Charakterisierung des „Vibrion septique“ bzw. des „Bacillus des malignen Oedems“, wie sie uns durch Pasteur, Koch und Gaffky gegeben wurde, als eine unvollständige und nicht mehr zureichende ansehen müssen, so bleibt der Wert dieser grundlegenden Arbeiten doch ein bleibender. Und deshalb müssen unserer Meinung nach gerade diese Arbeiten, will man sich mit der Frage des sogenannten malignen Oedems beschäftigen, immer eingehendst berücksichtigt werden. Der Umstand jedoch, daß dies nicht immer geschah, brachte es mit sich, daß in dieser Frage unsere Kenntnisse späterhin vielfach nicht erweitert, sondern eher verwirrt wurden. Diese Verwirrung steigerte sich so weit, daß von mancher Seite sogar die Existenz des „Bacillus des malignen Oedems“ überhaupt in Frage gestellt wurde.

Vergleichen wir vorerst, bevor wir des näheren über die übrige Literatur berichten, das von uns gefundene Bakterium mit dem von Pasteur, R. Koch und Gaffky beschriebenen, so muß hervorgehoben werden, daß alle Eigenschaften des „Vibrion septique“ Pasteurs bzw. des „Bacillus des malignen Oedems“ R. Kochs auch unserem Bacillus zukommen: Obligate Anaërobiose, Beweglichkeit, Form, Sporenbildung, tierpathogenes Verhalten und Verbreitungsweise im toten Körper.

Genügte früher eine solche Übereinstimmung vollends, um die Identität zweier Mikroorganismen als gesichert hinzustellen, so wäre es heute verfehlt, nur auf Grund der eben angeführten Merkmale die Art-einheit zweier Bakterienformen als feststehend anzusehen. Die Erweiterung unserer Kenntnisse über die Bakterien und ihre Diagnose im allgemeinen, über die anaëroben Bakterien im besonderen gestattet es uns nicht mehr, die oben erwähnten übereinstimmenden Merkmale allein als ausreichend dafür zu betrachten, unseren Bacillus sicher mit dem „Vibrion septique“ Pasteurs bzw. dem „Bacillus des malignen Oedems“ R. Kochs zu identifizieren. Allerdings könnten wir andererseits auch auf Grund dieser übereinstimmenden Merkmale niemals die Möglichkeit der Identität der genannten Bacillen ausschließen.

Wenden wir uns nunmehr zur übrigen Literatur über den Erreger des malignen Oedems, so erfordern zunächst die beiden Fälle von Brieger und Ehrlich¹⁾ Erwähnung. Die Fälle betrafen Infektionen am Menschen, als deren Erreger Bacillen beschrieben werden, die vollständig den von R. Koch gegebenen Abbildungen der „Bacillen des malignen Oedems“ geglichen haben sollen. Eine nähere Beschreibung der Bacillen und ihrer Eigenschaften wurde von den beiden Autoren nicht gegeben, da kulturelle Untersuchungen nicht ausgeführt wurden. Mit je $\frac{1}{4}$ ccm der vom Menschen stammenden Oedemflüssigkeit wurden 1 Meerschweinchen und 2 Kaninchen subkutan geimpft. Alle 3 Tiere

1) Brieger und Ehrlich, Ueber das Auftreten des malignen Oedems bei Typhus abdominalis. (Berl. klin. Wochenschr. 1882.)

gingen ein und ergaben folgenden übereinstimmenden Befund: „Ein ausgedehntes Oedem im Unterhautfettgewebe und seröse Durchtränkung der Bauch- und Brustmuskulatur; in der Flüssigkeit sowie in den inneren Organen wurden die Bacillen des malignen Oedems nachgewiesen“. Ebenso zeigten auch die mit der Oedemflüssigkeit vom Meerschweinchen geimpften 3 Versuchstiere (1 Kaninchen, 2 Meerschweinchen) „die charakteristischen Veränderungen des malignen Oedems“. Aus diesen dürftigen Angaben läßt sich selbstverständlich über den Erreger der Prozesse kein sicherer Schluß ziehen, doch spricht die Beschreibung des tierpathogenen Verhaltens dieser Bacillen dafür, daß es sich um Bakterien gehandelt haben mag, die den Versuchstieren gegenüber eine ähnliche Wirkung zeigten wie die von Pasteur, R. Koch und Gaffky beschriebenen und wie der von uns gefundene.

Während Brieger und Ehrlich als erste das von R. Koch aufgestellte, bei Tieren künstlich erzeugte Krankheitsbild — das maligne Oedem — als auch für den Menschen zu Recht bestehend ansprachen — wir werden darauf noch später zurückkommen — beschrieben nicht lange darnach Chauveau und Arloing¹⁾ eben diesen „Vibrien septique“ als Erreger der „Septicémie gangréneuse“, einer Erkrankung, die unter verschiedenen Namen, so als „Gangrène foudroyante“, „Gangrène gazeuse“, „Emphysème gangréneux“ etc., schon seit langem beim Menschen bekannt war. Die beiden genannten Autoren gaben als Ergebnis ihrer Untersuchungen, ohne übrigens diese Fälle genauer zu beschreiben, folgendes bekannt: Der Erreger der „Septicémie gangréneuse“ sei der „Vibrien septique“ Pasteurs. Dieser zeige sich in dem mehr oder weniger sanguinolenten Oedem beim Menschen oder Tier in 2 Formen, entweder als Bacillus mit einer Spore an einem Ende, welches zuweilen leicht angeschwollen erscheine, oder als etwas längerer Bacillus mit „homogenem“ Protoplasma. In den serösen Höhlen werde der Bacillus sehr lang, teile sich in mehr oder weniger kurze Teile, zeige aber niemals Sporen. Nach intravenöser Infektion finde sich der Bacillus im toten Organismus in allen mit serösen Häuten bekleideten Räumen, nach Injektion in den Schenkel dringe er in die Peritonealhöhle, nach Injektion am Nacken in die Pleura- und Perikardhöhle ein. In das Blut gelange er am Ende der Krankheit oder gar erst nach dem Tode. Er sei für die meisten Laboratoriumswarmblüter virulent: Für das Pferd, den Esel, den Hammel, den Hund, das Schwein, die Katze, das Meerschweinchen, das Kaninchen, die weiße Ratte, die Ente und das Huhn. Nur das Rind soll sich als unempfänglich erweisen. Die geeignetste Stelle für die Inokulation des Virus bilde das vor Luft geschützte Bindegewebe und die allerbesten Bedingungen zum Wachstum finde das Virus in jenen Geweben, die bei Abschluß von Luft mortifizieren. Hitze, Anschwellung, schmerzhaftige Spannung, Gasinfiltration, weiterhin Mortifikation und Sensibilitätsverlust stellen die einer subkutanen Infektion folgenden Erscheinungen dar. Bei kleinen Tieren, welche der Injektion einer größeren Dosis rasch erliegen, könne die „Infiltration gazeuse“ auch fehlen. Wiederholte Injektionen beim Esel, Hammel und Hunde seien im stande, Immunität zu erzeugen.

In der Diskussion über diese Mitteilungen von Chauveau und

1) Chauveau et Arloing, Étude expérimentale sur la septicémie gangréneuse. (Bull. de l'académie de méd. Sëance. 1884. 6 Mai.)

Arloing erhob Trélat¹⁾ einige Bedenken, welche Chauveau²⁾ veranlaßten, der ersten Arbeit einige Erläuterungen hinzuzufügen, denen wir folgendes entnehmen: Chauveau stellte zunächst fest, daß es ihm trotz vieler Schwierigkeiten gelungen sei, den Erreger der „Septicémie gangréneuse“ nach Pasteurs Methode im leeren Raume zu züchten. Die erlangten Kulturen erzeugten wieder „Septicémie gangréneuse“. Die Identität des Erregers der genannten Krankheit mit dem „Vibron septique“ sei anzunehmen oder zunächst eine „parenté singulièremente rapprochée“ der beiden Bacillenformen, denn sie glichen einander auch in ihren Formen aus den Kulturen und hätten dieselben tierpathogenen Eigenschaften. Des weiteren führte Chauveau aus, daß die Krankheit von einem Meerschweinchen auf das andere übertragen werden könne und daß sich das Mikrobion während einer solchen Versuchsserie nicht ändere. „Il s'entretient et se cultive ainsi, seul“, wenn man sorgfältig arbeitet und immer vom sterbenden oder eben gestorbenen Tiere weiterimpft. Die Anaërobiose des Bacillus bedinge es, daß von den Oberflächen von Wunden so schwer eine Infektion erzeugt werden könne und daß im lebenden Blute kein Wachstum stattfinde. Durch intravenöse Injektionen gelinge es leicht, bei Versuchstieren Immunität zu erzeugen.

Aus einer Blase (Phlyktäne) — wie sie bei der „Septicémie gangréneuse“ des Menschen entfernt vom Hauptherde der Krankheit vorzukommen pflegen und deren flüssiger Inhalt den spezifischen Mikroben „à l'état de pureté“ enthalte — gelang es Chauveau, Kulturen zu erhalten, die sich noch in der 3. Generation virulent erwiesen. Die Veränderungen, die sich nach Injektion einer sehr geringen Menge von Flüssigkeit aus einer solchen Blase im Tierkörper zeigten, beschrieb Chauveau gleichlautend jenen, die Pasteur nach Injektion des „Vibron septique“ erhielt: Sanguinolentes Oedem unter der Haut, in die Muskeln und ihre Interstitien eindringend, mit vereinzelt Gasblasen; etwas trübe Flüssigkeit im Peritonealraum, in derselben sowie auf der Oberfläche der Leber und der übrigen Bauchorgane Fäden, die sehr wenig beweglich waren.

Wie aus dem Mitgeteilten ersichtlich ist, brachten uns die Arbeiten von Chauveau und Arloing wenig Neues über das morphologische und biologische Verhalten des „Vibron septique“, mit dem sie den von ihnen gefundenen Bacillus identifizierten. Bemerkenswert erscheint uns nur, daß dieser Bacillus, der in vieler Hinsicht mit unserem Bacillus übereinstimmt, gerade auch in Fällen beim Menschen gefunden werden konnte, welche die dem sogenannten „Gasbrand“ zukommenden Veränderungen gezeigt hatten, ähnlich wie in dem von uns beobachteten Falle. Die Krankengeschichten dieser Fälle von Chauveau und Arloing sind in der Dissertation von Courboulès³⁾ enthalten, der unter der Leitung der beiden genannten Autoren ihre Beobachtungen zusammenfaßte. Diese Fälle stellten typische „Gasphlegmone“ dar.

1) Trélat, Discussion sur la septicémie gangréneuse. (Bull. de l'académie de méd. Séance. 1884. 3 juin.)

2) Chauveau, De la septicémie gangréneuse. (Bull. de l'académie de méd. Séance. 1884. 19 août.)

3) Courboulès, M., Contribution à l'étude de la nature et de la prophylaxie de la septicémie gangréneuse. Thèse de Lyon, 1883. Zitiert nach Arloing und Stolz (siehe später).

Sicherlich nicht identisch mit den von Pasteur, R. Koch und Gaffky beschriebenen Bacillen sind die Bakterien, die Petri¹⁾ in spontan aufgetretenem malignen Oedem bei Kaninchen gefunden haben will.

Diese Bacillen Petris wurden auf Kartoffeln und Möhrenscheiben bei 17—38° C gezüchtet, wuchsen auf Gelatine — offenbar aërob — als dicklicher, rahmartiger Belag ohne Verflüssigung und erzeugten bei den Versuchstieren Oedem; zuweilen aber fehlte dieses; die Bacillen fanden sich stets im Blute und den Organen.

Die ersten Kulturbeschreibungen des „Bacillus des malignen Oedems“ in festen Nährböden stammen von W. und R. Hesse²⁾. Durch Impfung mit ca. 2 Jahre altem Hadernstaub gelang es ihnen, bei Mäusen „malignes Oedem“ zu erzeugen, das in 1—2 Tagen zum Tode führte. Die Sektion der Tiere ergab Rötung und Oedem des Unterhautzellgewebes im Umkreise der Injektionsstelle, oft mit Gasbläschen. Im Oedem fanden sich reichlich „Oedembacillen“, zum Teile in Versporung begriffen. Aus den Tieren erhielten W. und R. Hesse nun dadurch Kulturen, daß sie Gewebstückchen der gefallenen Tiere in Agar oder Gelatine versenkten. Im Agar gab sich das Wachstum dadurch kund, daß sich vom Gewebstückchen aus unter zunehmender Gasbildung eine Trübung ausbreitete. Bereits am Ende des ersten Tages waren Sporen nachweisbar und die Entwicklungsstadien derselben, die sich durch ei- oder spindelförmige Anschwellung des Bacillus und Verlust der Färbbarkeit im zentralen Teile desselben kundgaben. Bei gewöhnlicher Temperatur erfolgte Wachstum und Sporenbildung viel langsamer. Deshalb zeigten auch Gelatinekulturen erst nach einigen Tagen um das Gewebstückchen einen weißen Hof, der nach außen „wie mit Haaren“ besetzt erschien. Die Gelatine wurde verflüssigt und schließlich bildete sich am Grunde der peptonisierten und dann klaren Gelatine ein wolkiger Bodensatz, der auch das Gewebstückchen enthielt.

Die Eigenbewegung der Bacillen war eine lebhafte und die Kulturen behielten auch nach wiederholten Umzüchtungen (bis zur 15. Generation) ihre pathogene Wirkung für Mäuse bei.

Wenn es auch nicht gelegnet werden kann, daß die Möglichkeit einer Reinkultivierung bei dem von W. und R. Hesse geübten Verfahren bestanden hatte, so wäre es doch unrichtig, eine solche ohne weiteres anzunehmen. Jedenfalls ist die Züchtungsmethode von W. und R. Hesse für die Gewinnung von Reinkulturen keine einwandfreie. Die Autoren selbst haben die Möglichkeit von Verunreinigungen stets im Auge gehabt, worauf folgende Ausführungen hinweisen: „Verunreinigungen des Nährbodens sind bei unseren Versuchen nur ausnahmsweise eingetreten und dann fast immer dadurch, daß das überimpfte Gewebe von vornherein neben Oedembacillen noch andere Mikroorganismen enthielt“, und: „... ist es von guter Vorbedeutung für den Impferfolg, wenn sich im Brutofen die Oberfläche des geimpften Agar-Agars rein erhält, der Stichkanal sich mehr in seinem unteren als in seinem der Oberfläche nahen Teile leicht trübt und wenn in gleichzeitig geimpfter Gelatine bei gewöhnlicher Zimmertemperatur einige Tage lang keinerlei mit bloßem Auge bemerkbare Veränderung sich kundgibt“.

Diesen sicherlich wertvollen Untersuchungen von W. und R. Hesse gegenüber müssen wir uns gleichfalls darauf beschränken, die auffallende Übereinstimmung festzustellen, die der Bacillus unseres Falles mit dem

1) Petri, Spontanes Auftreten von malignem Oedem bei Kaninchen etc. (Centralbl. f. med. Wissenschaften. 1884.)

2) Hesse, W. u. R., Ueber Züchtung der Bacillen des malignen Oedems. (Deutsche med. Wochenschr. 1885.)

„*Bacillus des malignen Oedems*“ der genannten Autoren aufweist, sowohl in morphologischer als auch in kultureller Beziehung, soweit eben die Untersuchungen ausgeführt wurden. Eine sichere Identifizierung beider ist aber nach dem Stande unserer heutigen Forderung für die Diagnose nicht erlaubt.

Die Untersuchungen von Kitt¹⁾ brachten über den Erreger des malignen Oedems nichts Neues; von seinen Tierexperimenten sei hervorgehoben, daß der von ihm gewonnene „*Bacillus des malignen Oedems*“ auch für Tauben pathogene Eigenschaften aufwies. Kitts Darstellung über den „*Bacillus des malignen Oedems*“ in der letzten Auflage seines Lehrbuches wird später erörtert werden.

Die Untersuchungen von Liborius²⁾ über den „*Bacillus des malignen Oedems*“ hatten exakte Methoden zur Grundlage. Bei seinen Studien über anaërobe Bakterien isolierte er aus der Oedemfüßigkeit von Mäusen, die nach Einführung von Gartenerde von Grunde gegangen waren, durch Abimpfung von einzelnen Kolonien aus Agarschüttelkulturen Bacillen, die er als solche „des malignen Oedems“ bezeichnete. Diese Bacillen stellten 3 μ lange und 1 μ breite Formen dar, die oft lange Fäden bildeten. In den Kulturen erfolgte Sporenbildung, nachdem die Bacillen vorher Spindel- oder Kaulquappenform angenommen hatten. Die Kolonien in Agar bildeten eine mattweise, allmählich in die Umgebung sich verlierende Trübung, in welcher man eine feine Streifung angedeutet sah. In Gelatine zeigten sich die isolierten Kolonien bei 20° C nach 2—3-tägigem Wachstum als mit Flüssigkeit gefüllte Kugeln, die größer wurden, wobei der Inhalt zart trüb wurde und sich am Rande eine feine radiäre Strichelung ausbildete. In Blutserum fand Wachstum als homogene Trübung entlang dem Stichkanale statt, ohne daß sich Gestank bemerkbar machte.

Insoweit beständen im allgemeinen keine wesentlichen Differenzen zwischen dem „*Bacillus des malignen Oedems*“ von Liborius und dem von uns gefundenen; auch die der Arbeit von Liborius beigegebenen Abbildungen bestätigen die Uebereinstimmung beider Bacillenformen. Auffallend und nicht vereinbar mit unseren Beobachtungen erscheint uns jedoch die Angabe von Liborius, in seinen Kulturen hätte sich Gasbildung nur in vereinzelt Fällen gezeigt, in den zuverlässigsten Versuchen überhaupt vollständig gefehlt, so daß Liborius geneigt war, die nicht regelmäßig zu beobachtende Gasentwicklung auf Verunreinigungen mit anderen Anaëroben zurückzuführen.

Immerhin könnte man sich aber vorstellen, daß das Fehlen von Gasbildung von den Nährböden abhängig und deshalb mehr einem Zufalle zuzuschreiben war. Aber selbst dies zugegeben, könnte die Stellung des *Bacillus* von Liborius unserem gegenüber nicht sicher klargestellt werden, da über zweifelsohne für die Diagnose wichtige Merkmale wie Beweglichkeit, Verhalten in der Milch etc. keine Untersuchungen vorgenommen wurden.

Liborius beschrieb aber außerdem noch einen „*Pseudoödembacillus*“, der sich häufig als Begleiter des „*Bacillus des malignen Oedems*“ fand, dicker als dieser war und meist 2 Sporen in einem *Bacillus* ohne Gestaltveränderung des letzteren aufwies. Gelatine wurde verflüssigt und in zuckerhaltigen Nährböden entwickelte er reichlich Gas

1) Kitt, Th., Bericht über etc. . . a) Untersuchungen über malignes Oedem und Rauschbrand (Jahresber. d. kgl. Zentral-Tierarzneischule in München. 1883—84; Leipzig 1885) und Malignes Oedem (Ibid. 1884—85.) Ref. Jahresber. von Baumgarten. 1885 u. 1886.

2) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886.)

unter Bildung von Geruch nach altem Käse (Buttersäure). Die Kolonien in Agar waren kugelig oder oval, wetzsteinförmig und mit rauhem Kontur. Die Bacillen wurden als pathogen beschrieben, doch ohne genauere Bekanntgabe der Befunde.

Von französischer Seite stammten die ersten Angaben über das Verhalten des „Vibron septique“ in festen Nährböden von Roux¹⁾. Das Wachstum in Agar erfolgte nach Roux bei 38° C rapid, nach 24 Stunden schon als weißlicher, an den Rändern „festonierter“ Streifen sichtbar. Bald trat auch reichliche Gasbildung ein. Die isolierten Kolonien in Agar bildeten kleine weißliche Flocken, die bei mikroskopischer Betrachtung im Zentrum gestreift und an den Rändern verzweigt („arborescentes“) erschienen. In Gelatine waren die Kolonien weißliche Flocken mit unscharf begrenzten Rändern, ihre Umgebung verflüssigt. Auch im Gelatinestich erfolgte Verflüssigung entlang dem Impfstiche. Bouillonkulturen ließen bei 38° C rasche Entwicklung erkennen unter Bildung von Kohlensäure und Wasserstoff und ohne Aenderung der Reaktion der Flüssigkeit. Nach 12—24 Stunden war die Bouillon trübe, sie enthielt dann zahlreiche, teils gekrümmte oder auch wellenförmig gewundene („ondulés“), teils gerade Bacillen. Bald aber wurde die Kultur wieder klar, die Bacillen fielen zu Boden und schwoilen dabei manchmal an einem Ende an. In dieser Partie des Bacillus bildete sich dann die Spore. Die Sporen hielten sich lange in Kulturen und widerstanden Temperaturen von 75—80° C. In festen Nährmedien waren die Bacillen kürzer als in flüssigen, nahmen nicht die gebogenen Formen an und versporteten langsamer. Als differentialdiagnostisch wichtig gegenüber dem Rauschbrandbacillus betonte Roux den Tierversuch mit Kaninchen: „Vibron septique“ tötete diese Tiere, der Bacillus des Rauschbrandes hingegen nicht.

Obwohl sich auch der Bacillus von Roux in dem beschriebenen morphologischen (Abbildung) und kulturellen Verhalten fast völlig mit unserem Bacillus deckt, und insonderheit auch das pathogene Verhalten Kaninchen gegenüber ein beiden Bacillen gemeinsames Merkmal bildet, erscheint es nicht gerechtfertigt, die beiden Bacillen ohne weiteres als sicher identisch anzusehen. Die Gründe für diese Zurückhaltung sind dieselben, die wir schon früher auseinandergesetzt haben.

In einer Arbeit mit Chamberland erwähnte Roux²⁾ bei Erörterung eines Meerschweinchenbefundes nach Infektion mit dem Vibrio septique auch die „Rötung der Muskeln und Eingeweide“, außerdem, daß die Sporen des Vibrio septique die Erhitzung auf 105—110° C durch 5 Minuten nicht vertragen. Die Immunitätsversuche gegenüber dem Vibrio septique, welche die genannte Arbeit in erster Linie zum Gegenstande hat, sollen hier nicht weiter erörtert werden.

Im Jahre 1887 beschrieben Jensen und Sand³⁾ zum ersten Male „malignes Oedem“ bei Pferden. Die dabei gefundenen Bacillen, die als identisch mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ von R. Koch angesprochen wurden, zeigten in beiden Fällen endständige Sporen. Kulturen in Fleischextraktlösung (mit Pepton und Zucker) unter Kohlensäuregediehen bei 38° C gut, sie trübten sich und bildeten einen Bodensatz. In koaguliertem Serum erfolgte nach Ueberschichtung mit Agar üppiges Wachstum mit „äußerst übelriechender“ Gasentwicklung. In Fleischwasserpeptongelatine zeigte sich bei 21—22° C Wachstum mit Bildung

1) Roux, Sur la culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887.)

2) Roux et Chamberland, Immunité contre la septicémie par des substances solubles. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887.)

3) Jensen und Sand, Ueber malignes Oedem beim Pferde. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin u. vergleichende Pathologie. Bd. XIII. 1897.)

borstenähnlicher Ausläufer, Gasentwicklung und Verflüssigung. Nach subkutaner Impfung mit Oedemflüssigkeit und Muskelstückchen vom ersten Pferde an 2 Ratten verendete die eine, nachdem sich an der Injektionsstelle ein Oedem ohne Gasblasen entwickelt hatte, während die andere gesund blieb. Zwei mit demselben Material subkutan geimpfte Kaninchen starben mit Oedem und starker Gasbildung. Impfungen von Tier zu Tier durch 18 Generationen hatten keine Abschwächung der Virulenz zur Folge, ebensowenig wiederholte Ueberimpfungen in koaguliertes Serum.

Der anatomische Befund bei beiden Pferden charakterisierte sich durch ein ausgedehntes Oedem mit Emphysem im subkutanen Gewebe. Die von der Schnittfläche ab rinnende Flüssigkeit war blutig-serös und gashaltig und von widrigem Gestank, der ausdrücklich betont wird.

Die Beobachtungen von Jensen und Sand an ihren Bacillen decken sich mit den von uns erhobenen Befunden bis auf den Geruch der gebildeten Gase, der von den genannten Autoren bei ihren Bacillen ausdrücklich als ein widerlicher bezeichnet wurde. Eine derartige Beschaffenheit des Gasgeruches konnten wir allerdings niemals konstatieren, weder in unserem Falle beim Menschen noch bei den zahlreichen Tierexperimenten, noch auch in den Kulturen. Es erscheint uns jedoch fraglich, ob wir berechtigt wären, dies als ein Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden Formen anzusehen, zumal wir bei der Beschreibung unserer diesbezüglichen Beobachtungen die graduellen Verschiedenheiten der Intensität des Geruches in den Kulturen hervorhoben. Da aber auch von diesen Autoren keine Angaben über das Verhalten in der Milch gemacht wurden, erschien uns ohnedem eine Identifizierung beider Bacillen als nicht gerechtfertigt.

Die Mitteilungen von Charrin und Roger¹⁾ haben für unsere Frage wenig Bedeutung. Sie fanden unter anderem, daß der „Vibron septique“ bei Hunden nach subkutaner Applikation bloß eine lokal mortifizierende Hautaffektion erzeuge und nicht sicher Immunität gegen eine neuerliche Inokulation verleihe.

Auch die Arbeit von Kraunhals²⁾ erfordert keine eingehendere Besprechung. Dieser Autor wollte den Nachweis erbringen, daß die sogenannte „Hadern“-Krankheit eine Infektion mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ darstelle. Es fehlen jedoch nähere Angaben über das kulturelle Verfahren des Bacillus, da nicht immer Reinkulturen desselben angelegt wurden.

Völlig unverwertbar für einen Vergleich ist auch der von Braatz³⁾ mitgeteilte, als „malignes Oedem“ beim Menschen viel zitierte Fall. Die serös-eitrige, übelriechende gashaltige Flüssigkeit, die aus einer emphysematösen Anschwellung am Halse durch Incision entleert wurde, enthielt im Deckglaspräparate neben anderen Bakterien Fäden, die teils gerade, teils hakenförmig gebogen waren und stellenweise ein buntes Gewirr bildeten. Ohne Tierversuche und ohne Kulturversuche, einfach auf Grund des Deckglasbefundes, sah Braatz diese Fäden als Bacillen des malignen Oedems an und hielt sich für berechtigt, die Diagnose „malignes Oedem“ daraufhin als „eine ganz sichere“ anzusehen.

Aus der Mitteilung von Moretti⁴⁾, der 3 Fälle von malignem Oedem beim Pferde nach Kastration beschrieb, erfahren wir nichts, was für die Diagnose des „Bacillus des malignen Oedems“ von Belang wäre. Die Diagnose erfolgte durch Deckglaspräparate und positive Tierimpfungen mit der Oedemflüssigkeit (Kaninchen), doch sind auch diese Angaben recht ungenau.

1) Charrin et Roger, G. H., Effets de l'inoculation du vibron septique chez le chien. (Compt. rend. hebdom. des séances et mémoires de la soc. de biol. 1887.)

2) Kraunhals. Zur Kasuistik und Aetiologie der Hadernkrankheit. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. II. 1887.)

3) Braatz, Ueber einen Fall von malignem Oedem. Genesung. (St. Petersburger med. Wochenschr. 1887.)

4) Moretti, G. P., Tre casi d'edema maligno conseguenti a castrazione. (La clinica veterinaria. Vol. X. 1887.)

Wenig Wert hat auch die Mitteilung von Bremer¹⁾, der einen Fall von malignem Oedem bei einer 35-jährigen Frau beobachtet haben will. Im Bereiche der ganzen Pektoralgegend und eines Teiles des rechten Oberarmes zeigte sich Anschwellung und Knistern. Bei der Incision der erkrankten Particeen entleerte sich blutig-seröse Flüssigkeit und stinkendes Gas. Die Sektion ergab Emphysem der oben erwähnten Körperparticeen und breite Beschaffenheit der Oberarmmuskulatur sowie Emphysem der Brust- und Bauchorgane. Kulturen wurden nicht angelegt. Allein aus dem Deckglaspräparate will Bremer sowohl den „Bacillus des malignen Oedems“ als auch den „Pseudoödembacillus“ von Flügge und Liborius diagnostiziert haben. Zwei Meerschweinchen, die einige Tropfen der blutig-serösen Flüssigkeit aus den zerfallenen Muskeln und abgeschabtes Sekret vom Peritoneum injiziert erhielten, gingen ein.

Cornevin²⁾ veröffentlichte eine größere Studie über den Erreger der Gangrène foudroyante, speziell über seine Wirkung auf verschiedene Versuchstiere und über Immunisierungsversuche mit diesem Bacillus. Den Erreger der Gangrène foudroyante identifizierte Cornevin mit dem „Vibrio septique“, den man in der Erde findet und stützte diese Ansicht auf folgende Versuche: Wenn man den „Vibrio septique“ mit denselben die Virulenz schädigenden Mitteln behandelt, wie die Mikrobe der Gangrène foudroyante, so erhält man einen Schutzstoff, der mit vollvirulenten Bacillen geimpfte Tiere schützt. Die Impfungen mit dem geschwächten Virus schützen gegen die Gangrène foudroyante und die Septicémie (d'origine tellurique) und ein präventiv mit dem abgeschwächten Virus der Gangrène foudroyante geimpftes Tier ist auch gegenüber dem in der Erde vorkommenden Virus der Septicémie geschützt.

Genauere Beschreibungen der verwendeten beiden Bacillenarten fehlen jedoch in der Arbeit.

In der Arbeit von Hürliman³⁾, die uns im Originale nicht zugänglich war, ist dem Referate zufolge keine Angabe enthalten, die für die Diagnose des „Bacillus des malignen Oedems“ irgendwie von Belang wäre.

Auch in den Arbeiten von Friis⁴⁾ und Hafner⁵⁾ finden wir keine näheren Angaben über die gefundenen „Bacillen des malignen Oedems“. Hafners Fall betraf ein Rind. Emphysem fehlte in diesem Falle, was der Autor besonders hervorhebt.

Roger⁶⁾ fand im Gegensatz zu anderen Autoren Kaninchen refraktär gegen den „Vibrio septique“, wenn man die Bacillen in Reinkultur allein injiziert, während Meerschweinchen denselben Stamm rasch erlagen mit den typischen Erscheinungen der „Septicémie gangrèneuse“. Auch von den erlegenen Meerschweinchen weg geimpfte Kaninchen vertrugen reaktionslos größere Mengen des Virus. Dagegen erhielt Roger positive Resultate, wenn er Kaninchen gleichzeitig mit dem Vibrio septique Prodigious einverleibte. Roger meint, daß der Prodigious, der für sich allein auch unwirksam sei, durch lösliche Fermente, die er sezerniere, dadurch den Boden („le terrain“) ändere.

Kerrys⁷⁾ Arbeiten über den „Bacillus des malignen Oedems“ behandeln ausschließlich die Produkte der Eiweißzersetzung durch den genannten Bacillus.

Kitasato⁸⁾ hingegen bemerkte gelegentlich der Erörterung der Unterschiede zwischen den Bacillen des malignen Oedems und den Rauschbrandbacillen folgendes: In Meerschweinchenbouillon bilden die Bacillen des malignen Oedems diffuse Trübung. Nach 2—3 Tagen klärt

1) Bremer, L., Malignant oedema and fat embolism. (The American Journ. of the med. sciences. Vol. XCV. 1888.)

2) Cornevin, Ch., Contribution à l'étude expérimentale de la gangrène foudroyante et spécialement de son inoculation préventive. (Journ. de méd. vétér. et de zootechnie. 1888.)

3) Hürliman, Der sogenannte „kalte Brand“. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. 1888. Ref. Jahresber. über d. Leistungen auf d. Geb. d. Veterinärmedizin für 1888.)

4) Friis, Onaarled Oedem hos Hesten. (Tidskr. f. Veter. Ref. Jahresber. über d. Leistungen auf d. Geb. d. Veterinärmedizin für 1888.) — Kleinere Mitteilungen etc. III. Malignes Oedem beim Pferde. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. XV. 1889.)

5) Hafner, Zur Kasuistik des malignen Oedems. (Bad. tierärztl. Mittel. Ref. Jahresber. über d. Leistungen a. d. Geb. d. Veterinärmedizin f. 1889.)

6) Roger, G. H., Quelques effets des associations microbiennes. (Compt. rend. hebdomad. des séances et mémoires de la société de biologie. 1889.)

7) Kerry, Ueber die Zersetzung des Eiweißes durch die Bacillen des malignen Oedems. (Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch. 1889 u. Wien. Monatsh. f. Chemie. 1889. Ref. Baumgartens Jahresber. 1889.)

8) Kitasato, Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Kulturverfahren. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. VI. 1889.)

sich die Kulturflüssigkeit unter Bildung eines Bodensatzes. Die Kultur stinkt penetrant und bleibt durch mehrere Monate virulent. 0,1–0,5 ccm töten nach subkutaner Injektion Mäuse und Meerschweinchen in der Zeit von 8–15 Stunden unter Oedembildung im subkutanen Gewebe und in der oberflächlichen Muskulatur und Gasbildung in den Geweben. Die Bacillen sind in großer Menge im Oedem, im Blute und den inneren Organen vorhanden, oft lange Fäden bildend.

Die Beobachtungen Kitasatos über den Geruch der Kulturen decken sich mit denen Jensens und Sands. Wir verweisen deshalb auf unsere Bemerkungen zu dem Aufsätze dieser Autoren.

Hoegh¹⁾ teilte einen Fall von „Malignant oedema“ mit bei einem 11-jähr. Mädchen, entstanden nach Verletzung durch einen Nagel. Es entwickelte sich eine Gangrän des Fußes ohne Eiterung, aber mit Gasblasen. Amputation und Heilung. Mikroskopische und kulturelle Untersuchung wurde nicht ausgeführt. 2 Kaninchen, die „with the serum and the contents of the bullae“ geimpft wurden, reagierten nicht. Verneuil²⁾ berichtete über mehrere Fälle von Tetanusinfektion, die mit „septicémie gangréneuse“ vergesellschaftet war und identifiziert letzteren Krankheitsprozeß mit dem malignen Oedem, ohne aber genauere bakteriologische Befunde mitzuteilen.

Schlake³⁾, der „malignes Oedem“ bei einem Pferde beobachtet haben will und die das subkutane und intramuskuläre Bindegewebe durchsetzende rötliche, gelbe Flüssigkeit als von „höchst üblem Geruch“ bezeichnet, fand mikroskopisch „zahlreiche Bacillen von verschiedener Länge“, die „große Beweglichkeit zeigten“. Kulturen und Tierexperimente wurden nicht gemacht.

Die Mitteilungen von Köckenberger⁴⁾ und Ziessler⁵⁾ enthalten keine Angaben über ausgeführte bakteriologische Untersuchungen.

Ebenso finden sich keine Angaben in der Mitteilung von Maier⁶⁾, die uns nur in einem Referate zugänglich war.

Kerrys und Fraenkels⁷⁾ Untersuchungen betreffen Studien über Vergärungsprodukte des „Bacillus des malignen Oedems“ und hatten als Ergebnis, daß dabei Milchzucker, Rohrzucker und Stärke, Butter-, Milch- und Ameisensäure und Methylalkohol gebildet wurden.

Cott⁸⁾ fand nach Injektion von Infusionen aus Moschusbeuteln an Meerschweinchen „typisches malignes Oedem“, gibt aber über die Bacillen desselben nur an, daß er „die anaëroben Bacillen aus der Milz ohne Mühe“ züchten konnte.

Einen „neuen Bacillus des malignen Oedems“ beschrieb E. Klein⁹⁾. Es handelte sich dabei jedoch um ein aërobes Bakterium, so daß für uns die Notwendigkeit entfällt, dasselbe hier weiter zu erörtern.

Einige etwas eingehendere Angaben über das Verhalten des „Bacillus des malignen Oedems“ finden sich in den Mitteilungen von Penzo¹⁰⁾.

1) Hoegh, K., Malignant oedema (Gangrenous emphysema; French „Gangrène gazeuse“). (The med. news. Vol. LVII. 1890.)

2) Verneuil, M., Note sur les rapports de la septicémie gangréneuse et du tétanos pour servir à l'étude des associations microbiennes virulentes. (La semaine méd. 1890.)

3) Schlake, Malignes Oedem. (Zeitschr. f. Veterinärk. Jahrg. II. 1891.)

4) Köckenberger, Malignes Oedem. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. Bd. XXXV. 1891.)

5) Ziessler, Malignes Oedem. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. Bd. XXXV. 1891.)

6) Maier, Beitrag zum malignen Oedem. (Badische tierärztl. Mitteilungen. 1891. Ref. Jahresber. über die Leistung a. d. Geb. d. Veterinärmed. f. 1891.)

7) Kerry u. Fraenkel, Ueber die Einwirkung der Bacillen des malignen Oedems auf Kohlehydrate und Milchsäure. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. math.-nat. Klasse. Bd. C. Abt. II. 1891.)

8) Cott, Untersuchungen über das Vorkommen von Bacillen des malignen Oedems in der Moschustinktur. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891.)

9) Klein, E., Ein neuer Bacillus des malignen Oedems. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891.)

10) Penzo, R., Contributo allo studio della biologia del bacillo dell'edema maligno. (Rend. della r. acad. 1891. Ref. Baumgartens Jahresber. 1891.) — Beitrag zum Studium der biologischen Verhältnisse des Bacillus des malignen Oedems. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891.)

Die Züchtungen wurden unter Wasserstoff vorgenommen. In Agarplatten waren bei 38° C schon nach 8–10 Stunden oberflächliche, punktförmige, weißlich-opake Kolonien von „nassem“ Aussehen sichtbar, die sich bald mit einem „zarten, ebenfalls opaken Ring mit unregelmäßig ausgezacktem Rande“ umgaben. Nach 20–30 Stunden war an den Kolonien mikroskopisch ein dichtes Netz fein granulierter Fäden erkennbar, die manchmal in kleinen Häufchen angeordnet waren. An den tiefen Kolonien ließ sich Gasbildung erkennen. In Gelatineplatten entwickelten sich bei gewöhnlicher Temperatur die Kolonien langsamer. Die Gelatine wurde rasch verflüssigt. In Gelatinestichkulturen erfolgte bei 18 bis 22° C nach 30 Stunden eine staubförmige Trübung entlang dem Impfstiche. Verflüssigung trat bald darauf ein, später auch Gasbildung. Zuletzt klärte sich die Gelatine unter Bildung eines weißlichen, flockigen, zum Teil staubförmigen Bodensatzes. In Agarstichkulturen zeigte sich bei 38° C weißliches Wachstum im Impfstiche mit gefransten Rändern, nach 12–18 Stunden trat Gasbildung ein, die rasch und erheblich zunahm. Auf schrägem Agar erfolgte Wachstum ähnlich den beschriebenen Oberflächenkolonien der Agarplatte. Auf Kartoffeln verursachte die Entwicklung des Bacillus nur ein leichtes Opakwerden der glänzenden Oberfläche. Als Temperaturoptimum fand Penzo 37–39° C. Unter 16° C trat kein Wachstum ein. Die Bacillen färbten sich mit allen bekannten Färbemitteln, „das Gramsche mit inbegriffen“. Bei der Sporenbildung verdickte sich das eine Ende, in welchem dann die ovoide, stark lichtbrechende Spore erschien. Die Sporen widerstanden durch 10 Minuten den Temperaturen heißen Wasserdampfes.

Können aus diesen kulturellen und morphologischen Befunden Penzos auch keine beträchtlichen Unterschiede gegenüber dem Verhalten unseres Bacillus gefunden werden, so läßt sich aber eine andere, auffällige Beobachtung von Penzo nicht leicht mit der Annahme vereinigen, daß derselbe einen mit unserem Bacillus identischen in der Hand hatte. Penzo fand nämlich, daß nach Injektion von Reinkulturen seines „Bacillus des malignen Oedems“ — von dem große Mengen (4–6 ccm) zur Tötung eines Meerschweinchens nötig wären — am Orte der Injektion keine Vermehrung der Bacillen erfolgte, sondern im Gegenteil eine Verminderung ihrer Zahl nachweisbar war und daß bei den gefallen Tieren der „gewöhnliche pathologisch-anatomische Befund (Oedem und Gasentwicklung im subkutanen Bindegewebe)“, wie er nach Inokulation von Gartenerde sich vorfindet, vollständig fehlte. Dagegen soll nach Einverleibung eines Gemisches der Reinkultur seines Bacillus mit einer Reinkultur des „Bacillus prodigiosus oder des Proteus vulgaris“ auch in kleinsten Dosen ein starkes Oedem mit Gasbildung aufgetreten sein. Und hier ergab die mikroskopische Untersuchung die Vermehrung des „eingepflichten Bacillus“.

Weiter fand Penzo, daß in Agar- oder Gelatineröhrchen auch bei Zutritt von Luft der sonst „rein anaerobische“ Bacillus des malignen Oedems sich entwickelte, wenn gleichzeitig einer der oben erwähnten Bacillen mitgeimpft wurde. Versuche nach dieser Richtung hin haben wir mit unserem Bacillus nicht angestellt. Daß anaerobe Bakterien neben aeroben, die den Sauerstoff des Kulturmediums aufbrauchen, gedeihen können, wurde bereits von Pasteur festgestellt.

Happich¹⁾ beschäftigte sich mit Infektionsversuchen an Tieren und erhielt mit dem Infiltrat und Muskelsaft des „malignen Oedems“ bei subkutaner Einverleibung

1) Happich, Infektionsversuche an Tieren mit dem Bacillus des malignen Oedems.

positive Resultate am Pferde, Hund und Kaninchen, negative am Rind und Schwein, bei intraperitonealer Injektion positive Erfolge am Hund, Kaninchen und an Ratten, nur teilweise positive Resultate bei intravenöser Injektion am Kaninchen, Hund und an einer Ziege.

Aus einem peritonen Abscesse will Giglio¹⁾ neben Staphylokokken den „Bacillus des malignen Oedems“ gefunden, anaërob reingezüchtet und mit demselben Versuche über seine Pathogenität angestellt haben. Mehr von dieser Arbeit ist aus dem Referate nicht ersichtlich.

Nékam²⁾ teilte 2 Fälle von malignem Oedem beim Menschen mit. In dem einen Fall ging die Infektion wahrscheinlich von der gangränésierten Lunge aus — die Veränderungen waren in der linken Pektoralgegend aufgetreten — im zweiten Falle zeigten sich die Veränderungen zuerst in der rechten Glutäalgegend und griffen nachher auf Hüfte und Oberschenkel über, doch konnte „Art und Stelle der Infektion“ nicht nachgewiesen werden. Ob bei diesen 2 Fällen noch andere Untersuchungen als die im Deckglaspräparate, ausgeführt wurden, ist aus dem Referate nicht ersichtlich.

Ueber die von Witte³⁾ in einem Pyosalpinxiter aufgefundenen „Bacillen des malignen Oedems“ wird nur angegeben, daß sie anaëroben Bakterien waren und daß 0,1 ccm der Bouillonkulturen weißen Mäusen subkutan injiziert, den Tod derselben mit weitausebreitem Oedem verursachte.

In einer größeren zusammenfassenden Arbeit besprach Arloing⁴⁾ den Stand der Kenntnisse über die Septicémie gangréneuse und ihren Erreger. Unter Würdigung der damals bekannt gewordenen Literatur über diesen Gegenstand verwertete Arloing in dieser Arbeit vorwiegend seine mit Chauveau veröffentlichten Untersuchungsergebnisse und die unter seiner und Chauveaus Leitung entstandene These von Courboulés. Wir verweisen diesbezüglich auf die schon besprochenen Arbeiten dieser Autoren. Dazu berichtete Arloing, daß Kulturen noch in der 5. Generation Meerschweinchen und Kaninchen mit den charakteristischen lokalen Befunden töteten. Gegenüber den Rauschbrandbacillen, die der Empfänglichkeit nach für Rind, Schaf, Meerschweinchen, weiße Ratten, Einhufer und Kaninchen pathogen wären, ordnen sich die für die Septikämieerreger empfänglichen Species wie folgt: Mensch, Pferd, Esel, Schaf, Schwein, Hund, Katze, Meerschweinchen, weiße Ratten, Kaninchen (mittelmäßig), junge Hühner und Enten. Die subkutane Einverleibung des Virus der Septicémie gangréneuse mache bei den dafür empfänglichen Tierspecies dieselben Erscheinungen, die man auch beim Menschen beobachten kann. Bezüglich der chemischen Leistungen sei hervorzuheben, daß das Virus der Septicémie gangréneuse Kohlehydrate und Albuminoide (Albumine und Peptone) vergäre. Von den Kohlehydraten wurden Rohrzucker, Laktose, Glukose, Mannit und Stärke geprüft.

Der Erreger der „Septicémie gangréneuse“ sei nach Arloing identisch mit dem von Pasteur beschriebenen „Vibrium septique“ und dieser identisch mit dem „Bacillus oedematis maligni“ von R. Koch und dem „Bacillus septicus“ von Mace. Arloing schlug deshalb vor, den Erreger der „Septicémie gangréneuse“ als „Ba-

Dissert. Dorpat. (Refer. Jahresbericht über die Leistungen auf dem Gebiete der Veterinärmed. 1892.)

1) Giglio, Der Bacillus des Oedema malignum bei Beckenabscessen. (Annali di Ostetria e Ginecologia. 1891. Refer. Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. 1892.)

2) Nékam, Az oedema malignumról. (Magyar Ovosi Archivum. 1892. Refer. Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. und Baumgartens Jahresber. 1892.)

3) Witte, Demonstration von Tubenpräparaten mit seltenen bakteriologischen Befunden. (Verhandl. d. Ges. f. Geburtsh. u. Gynäk. Berlin 1902; Centralbl. f. Gynäk. 1892.)

4) Arloing, S., Leçons sur la tuberculose et certaines septicémies. Paris (Asselin et Houzeau) 1892.

cillus septicus gangrenae“ zu bezeichnen, weil dieser Name am besten den Erreger dieser Krankheit charakterisiere.

Eingehend erörterte in der genannten Arbeit Arloing auch die klinische Seite der „Septicémie gangréneuse“, sowie das Vorkommen des „Bacillus septicus gangrenae“ in der Außenwelt (Luft, Wasser, Erde) und die Immunitätsverhältnisse dieser Erkrankung bei Tieren.

In 3 Fällen von „Septicémie gazeuse“ soll Campenon¹⁾ den „Bacillus des malignen Oedems“ gefunden haben, doch ist nach Stolz in der Arbeit nichts genaueres über die Identifizierung angegeben.

An giftigen Pfeilen hatte Le Dantec²⁾ angeblich den „Vibron septique“ nachgewiesen, ohne irgendwie Bemerkenswertes über seine Eigenschaften zu bringen.

Auch die Arbeit von Bertrand und Baucher³⁾, die in Dysenteriestühlen neben einer Reihe anderer Bakterien auch den „Vibron septique“ nachgewiesen haben wollen, enthält keine genaueren Angaben über den Bacillus. Sie kultivierten den Bacillus in Bouillon und um gleich von vornherein Reinkulturen zu erhalten, erhitzten sie die Kulturen zunächst auf 60° durch $\frac{1}{2}$ Stunde, um dann davon auf neue Bouillonröhrchen zu übertragen. Diese Kulturen waren für Meerschweinchen pathogen.

Eingehendere Untersuchungen verdanken wir erst wieder Sanfelice⁴⁾, der außer anderen interessanten Mitteilungen über anaerobe Bakterien auch eine Beschreibung des Bacillus des malignen Oedems (Vibron septique) gab. Er hatte dieses Bakterium aus Erde isoliert und beschrieb es als ein obligat anaerobes mit Eigenbewegung und Sporenbildung, von verschiedener Länge und mit abgerundeten Enden, feiner als der Milzbrandbacillus. Auf bedeckten Gelatineplatten (= mit sterilen Platten zur Abwehr des Luftzutrittes bedeckt) bildete er bei 20° C nach 2—3 Tagen mit freiem Auge sichtbare Kolonien, die mikroskopisch Subtiliskolonien glichen und Gas bildeten. Auf bedeckten Agarplatten waren sie bei 37° bereits nach 24 Stunden sichtbar und ließen unter dem Mikroskope ein Netzwerk von Fäden erkennen. In Gelatinestichkulturen entwickelte sich entlang dem Impfstiche ein weißer Streifen, von dem später Seitenzweige ausgingen, mit nachfolgender Gasbildung und Verflüssigung der Gelatine. Die Reaktion des Nährbodens hatte auf das Wachstum keinen besonderen Einfluß. In Glycerinagar bildete der Bacillus weder Säure noch Alkali. Milchkulturen zeigten Ausfällung eines Teiles des Kaseins und üppige Entwicklung. Auf der Kartoffeloberfläche (anaerob gehalten) erfolgte Wachstum ohne Hautbildung. Reinkulturen des Bacillus erlitten keine Virulenzabnahme, damit subkutan geimpfte Meerschweinchen starben in 24 bis 36 Stunden. Die gefundenen Veränderungen bestanden in einem serös-sanguinolenten Oedem des Unterhautbindegewebes mit vielen zerstreut liegenden Gasblasen ohne fauligen Geruch. „Das Fleisch ist so rot, als wenn es in eine Lösung von Fuchsin getaucht worden wäre.“ Milz zeigte keine Vergrößerung. Gleich nach dem Tode waren nur im

1) Campenon, Douze cas de septicémie gazeuse primitive. (Congr. franç. de chirurgie. 1892. Zitiert nach Stolz, Die Gasphlegmone des Menschen. Beiträge zur klin. Chir. Bd. XXXIII. 1902.)

2) Le Dantec, Origine tellurique du poison des flèches de Nouvelles-Hebrides (Océanic). (Annal. de l'Inst. Past. Bd. VI. 1902.)

3) Bertrand, L. E. et Baucher, Nouvelles études bactériologiques de selles dans la dysenterie nostras épidémique. (Gaz. hebdom. de méd. et de chir. 1893.)

4) Sanfelice, Sulla tossicità degli anaerobi del terreno. (Annali dell'Istit. d'igiene della R. Università di Roma. 1892. Refer. Baumgartens Jahresber. 1892.) — Della influenza degli agenti fisico-chimici negli anaerobi patogeni del terreno. (Ibid. 1893.) — Untersuchungen über anaerobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893.)

subkutanen Oedem Bacillen verhanden, später fand man auch im Blute und in den Organen lange Reihen von Bacillen.

In den Schnitten vom Unterhautbindegewebe fand man reichliche Infiltration mit Leukocyten, zwischen diesen viele Bacillen, die auch zwischen den normal aussehenden Muskelfasern der Bauchwand neben Leukocyten anzutreffen waren. Filtrate der Kulturen des Bacillus des malignen Oedems wirkten in Mengen von 25—30 ccm bei Meerschweinchen tödlich, ohne diejenigen charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen hervorzurufen, die bei der Infektion mit Bacillen erhalten wurden. Kleinere Dosen des Filtrates wiederholt einverleibt, erzeugten Immunität (Meerschweinchen).

Die Richtigkeit der früher erwähnten Angaben von Penzo, wonach sich die Bacillen des malignen Oedems an der Injektionsstelle nicht vermehren sollten, die Wirksamkeit der Kulturen vielmehr nur eine toxische wäre, bestreitet Sanfelice auf das Entschiedenste.

Wenn wir diese Angaben Sanfelices über seinen „Bacillus des malignen Oedems“ mit dem Verhalten des von uns gefundenen Bacillus vergleichen, so müssen wir die fast völlige Uebereinstimmung der morphologischen, kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften, soweit sie in den Untersuchungen Sanfelices berücksichtigt sind, hervorheben. Selbst die so auffällige Beobachtung der „fuchsinähnlichen“ Färbung der Muskulatur beim Meerschweinchen läßt sich mit unseren diesbezüglichen Beobachtungen, wenigstens cum grano salis ganz gut in Einklang bringen. Wenn wir demnach auch die Wahrscheinlichkeit der Identität unseres Bacillus mit dem von Sanfelice zugeben möchten, so glauben wir doch, nicht berechtigt zu sein, ohne weiteres die Artgleichheit bei der auf Grund der vorhandenen Untersuchungen, die schließlich ja einzig und allein maßgebend sein können, anzunehmen.

Nur nebenbei sei bemerkt, daß Sanfelice in der Erde neben dem Bacillus des malignen Oedems oft noch ein aërobes Stäbchen fand, das bei Meerschweinchen einen ähnlichen anatomischen Befund hervorzurufen im stande war und daher als „Bacillus pseudooedematis maligni“ bezeichnet wurde. Sanfelice hält diesen Bacillus mit dem von Klein beschriebenen „neuen Bacillus des malignen Oedems“ für identisch (siehe oben).

Novys¹⁾ „Bacillus oedematis maligni II“, in dem subkutanen Oedem von Meerschweinchen gefunden, die nach Injektion einer Lösung von Milchnuklein zu Grunde gegangen waren, wird als ein obligat anaërober, beweglicher, grampositiver Bacillus beschrieben, der gerade oder gebogen ist und auch kurze Fäden bildet. Geißeln waren leicht nachweisbar, auch „Riesengeißeln“. Sporenbildung konnte niemals beobachtet werden, nach Novy ein Unterscheidungsmerkmal vom Bacillus des malignen Oedems. In Kulturen fand bei Temperaturen unter 24° C kein Wachstum statt. Das Wachstumsoptimum lag zwischen 35 und 38° C. Bei dieser Temperatur zeigten sich in Traubenzuckeragar schon nach 15 Stunden etwa stecknadelkopfgroße Kolonien, die mikroskopisch wie aus einem Fadengewirr zusammengesetzt erschienen, die größeren Kolonien zeigten ein dunkleres Zentrum und einen unregelmäßigen, ausgefranzten Rand. In Stichkulturen erfolgte Wachstum bis etwa 1 cm unterhalb der Oberfläche. Später trat starke Gasbildung ein. Jüngere Kulturen rochen stark nach Buttersäure. Unter Wasserstoff entwickelte sich auf schräg erstarrtem Traubenzuckeragar ein weißes

1) Novy, Ein neuer anaërober Bacillus des malignen Oedems. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894.)

Häutchen, die isolierten Kolonien waren rundlich, weiß und erhaben. Auch in flüssiger Traubenzuckergelatine fand bei Brüttemperatur unter Trübung und Gasbildung Entwicklung statt. Später setzte sich eine flockiger Niederschlag ab und die Gelatine wurde klar. Die verflüssigte Gelatine blieb dann auch bei Zimmertemperatur flüssig. Auch in Bouillon erfolgte Wachstum, anfangs unter Trübung und Gasbildung, später mit Klärung und Satzbildung. Bei Zusatz von Natriumindigoschwefelsäure zum Nährboden erfolgte Reduktion. In traubenzuckerhaltiger Bouillon erzeugte der Bacillus bei seiner Entwicklung saure Reaktion. Der Bacillus war schon in geringen Mengen (0,1—0,4 ccm) pathogen für Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Mäuse und Ratten, Tauben und Katzen. Unter beständigem Temperaturabfall verendeten die Tiere nach 12—36 Stunden. Bei der Autopsie fand sich ein ausgedehntes sulziges Oedem des subkutanen Bindegewebes mit spärlicher Gasbildung und vor allem bei Kaninchen und Meerschweinchen reichliche, seröse Exsudate in den Pleurahöhlen. Doch fanden sich bei solchen Tieren im Oedem nur ganz vereinzelt Bacillen oder sie fehlten vollständig, so daß Novy ihre Wirkung den in den Kulturen enthaltenen Giften zuschrieb. Eine Vermehrung der eingeführten Bacillen fand jedoch dann statt, wenn gleichzeitig andere Bakterien oder Milchsäure einverleibt wurden.

Als Unterscheidungsmerkmale seines Bacillus von dem „klassischen“ Oedembacillus führt Novy folgende Punkte an: Das Vorkommen in längeren und dickeren Formen, die geringer lebhaftere Beweglichkeit, den Mangel an Sporen, den häufigen Befund von Riesengeißeln, den Befund gebogener und verschlungener Fäden in Bouillonkulturen (der Bacillus des malignen Oedems soll gewöhnlich gerade Formen oder seltener gerade Stäbchen zeigen), sein weniger üppiges Wachstum in Agar, das Aussehen der Bouillonkultur, die nach $1\frac{1}{2}$ —2-tägigem Wachstum unter Bildung eines Bodensatzes klar wird (der Bacillus des malignen Oedems bildet demgegenüber einen geringeren Niederschlag und läßt die Fleischbrühe länger trübe), und schließlich seine stärkere pathogene Wirkung gegenüber Versuchstieren.

Auch unser Bacillus unterscheidet sich von dem Novys. Zum Teile bestehen dieselben Differenzen, wie sie Novys Bacillus gegenüber dem Bacillus des malignen Oedems zeigt, wie z. B. die mangelnde Sporenbildung und die Riesengeißeln, andererseits aber wäre noch als Unterscheidungsmerkmal gegenüber unserem Bacillus hervorzuheben, daß der Bacillus von Novy kein Wachstum unter 24° C zeige und sich in seiner tierpathogenen Wirkungsweise anders verhalte.

Dem Falle von Mesnard¹⁾, der eine „Septicémie gangréneuse“ bei einer Kuh im Anschlusse an einen Fremdkörper im Oesophagus beschrieb, liegen keine bakteriologischen Untersuchungen zu Grunde.

Duenschmans²⁾ Arbeit bringt über das morphologische, kulturelle und tierpathogene Verhalten des Oedembacillus nichts Neues.

Auch die Mitteilungen von Böhm³⁾ und Reuter⁴⁾ enthalten keine bakteriologischen Befunde.

1) Mesnard, Septicémie gangréneuse chez une vache, à la suite d'arrêt de corps étrangers dans l'oesophage. (Journ. de méd. vétér. et de Zootechnie. 1893.)

2) Duenschman, Étude expérimentale sur le charbon symptomatique et ses relations avec l'œdème malin. (Annal. de l'Inst. Past. T. VIII. 1894.)

3) Böhm, Ein Fall von „malignem Oedem“. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. 1895.)

4) Reuter, Ueber einen Fall von spontaner Heilung bei malignem Oedem (?). (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. 1895.)

Ebenso sind die Fälle von Attinger¹⁾ ohne genauere bakteriologische Befunde. Es sind 16 Fälle beim Rinde, von denen 15 genesen. Bei der Skarifikation der sichtbaren Anschwellungen entleerte sich „übelriechende Flüssigkeit“. Der Autor betont die Schwierigkeit bakteriologischer Untersuchungen in der Landpraxis, will aber durch Deckglaspräparate die Diagnose des „Bacillus des malignen Oedems“ erhärtet haben und hebt hervor, daß „eine Unterscheidung derselben von den Anthraxbacillen, deren Vorhandensein schon durch das klinische Bild ausgeschlossen war“, gemacht werden konnte.

Auf die interessante Arbeit von Besson²⁾ können wir an dieser Stelle nicht näher eingehen, da sie für die Charakterisierung des „Bacillus des malignen Oedems“ nichts von Belang enthält. Sie beschäftigt sich mit Untersuchungen über das Gift des Vibriion septique und über die Bedingungen der Infektion mit den Sporen desselben. Es sei nur hier erwähnt, daß Besson filtrierte Kulturen nicht sehr giftig fand, indem erst 5—10 ccm des Filtrates einer Kultur in einer besonders zubereiteten Nährlüssigkeit Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion töteten.

In einem seiner Fälle von „malignem Oedem“ führte Horne³⁾ auch kulturelle Untersuchungen aus. Er fand dabei, daß in Agarstichkulturen der gefundene obligat-anaërobe Bacillus dürftiges Wachstum, aber starke Gasbildung zeigte, und daß die zweite Generation bei Mäusen malignes Oedem erzeugte.

In 2 Fällen von sogenanntem Geburtsrauschbrand bei Kühen will Carl⁴⁾ den „Bacillus des malignen Oedems“ nachgewiesen haben. Der gefundene Bacillus fand sich in den erkrankten Partien teils als sporenfrees, teils als Stäbchen mit end- oder mittelständiger Spore vor (neben anderen Bakterien, vornehmlich Kokken). Impfungen an Ratten erzeugten Oedem mit spärlichen Gasblasen. In diesem Oedem waren bewegliche Bacillen, auf dem Peritoneum lange Fäden nachweisbar. Aus dem Oedem einer Ratte wurden (zum Teil nach den Methoden von Liborius) anaërobe Reinkulturen angelegt. Diese erzeugten in Zuckerbouillonkulturen einen penetranten Gestank, in Bouillon zunächst Trübung, dann Klärung mit Bildung eines Bodensatzes, im Agarstich am 2. bis 3. Tage lebhaft Gasbildung und verflüssigten die Gelatine. Die isolierten Kolonien in Agar erreichten Stecknadelkopfgröße bis Erbsengröße, bildeten kugelfunde, zarte Trübungen mit deutlicher streifiger Beschaffenheit am Rande, und entsprachen völlig den Abbildungen von Liborius. Auch an den Kolonien in Gelatine konnte man am Rande derselben eine zarte Streifung mit der Lupe nachweisen. Tierversuche mit Reinkulturen (Bouillonkulturen in der Menge von $\frac{1}{2}$ —2 ccm subkutan) hatten bei Mäusen, Ratten und Meerschweinchen schon nach 20 Stunden den Tod zur Folge. Bei den Meerschweinchen fand sich ein blutigeröses Oedem des subkutanen Bindegewebes mit Gasblasen; das Bauchfell war gerötet, die Bauchmuskulatur braunrot bis schwarzbraun, morsch und stark durchfeuchtet. Aehnliche Befunde zeigten auch die Ratten und Mäuse. Die aus den Tieren gezüchteten Reinkulturen erzeugten wieder dasselbe Krankheitsbild. In den Organen waren häufig lange Fäden zu finden. Auch eine subkutan am Flügel geimpfte Taube starb nach 2 Tagen mit starker ödematöser Durchtränkung der braunrot gefärbten Muskulatur. In dem Oedem der Taube ließen sich fast nur versportete Bacillenformen nachweisen. Ein Kaninchen erkrankte nach der Injektion von 3 ccm Bouillonkultur, erholte sich aber, ein Kalb reagierte auf die Injektion von 20 ccm Bouillonkultur nicht.

1) Attinger, Malignes Oedem beim Rind. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. 1895.)

2) Besson, Contribution à l'étude du vibriion septique. (Annales de l'Inst. Past. 1895.)

3) Horne, Malignes Oedem beim Rinde. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1895.)

4) Carl, Zur Aetiologie des sogenannten Geburtsrauschbrandes. (Deutsche tierärztliche Wochenschr. 1895.)

Carl identifizierte den von ihm gefundenen Bacillus mit dem „Bacillus des malignen Oedems“. Vergleichen wir denselben mit unserem Bacillus, so müssen auch wir die Übereinstimmung beider in fast allen Punkten, die Carl als für den seinen charakteristisch angeführt hat, hervorheben. Nur den penetranten Gestank in den Bouillonkulturen fanden wir niemals. Doch haben wir schon an anderer Stelle darauf hingewiesen, daß es uns fraglich erscheine, ob gerade diesem Merkmale differentialdiagnostisch eine entscheidene Bedeutung zukomme. Immerhin dürfen wir aber auch in diesem Falle wegen der Unvollständigkeit der Untersuchungen Carls eine sichere Identifizierung beider Bacillen nicht ohne weiteres vornehmen.

Ringeling¹⁾ untersuchte das Kielwasser eines aus Indien zurückgekehrten Dampfers und will in demselben sowohl Tetanusbacillen als auch „Bacillen des malignen Oedems“ nachgewiesen haben. Dazu wurden anaerobe Kulturen in Gelatine nach Liborius bei 24° angelegt. In den untersten Schichten dieser Kulturen entwickelten sich einige rundliche Kolonien, grau, mit einem mehr weißlichen Zentrum, welche die Gelatine verflüssigten. Die Kolonien bestanden aus Bacillen, die den Anthraxbacillen ähnlich waren, nur etwas dünner und an den Enden abgerundet. Sie lagen einzeln oder in kettenförmigen Verbänden bis zu 20 Individuen. Auch Sporen fanden sich in einigen der Präparate. Die Bacillen waren sehr beweglich. Nach subkutaner Injektion solcher verflüssigter Gelatinekultur erlag eine Maus nach 20 Stunden. An der Injektionsstelle fand man eine geringe Menge einer serös-sanguinolenten Flüssigkeit, die Milz war vergrößert. Man fand dieselben Bacillen wie die aus der Kultur beschriebenen. Gasbildung konnte weder in den Kulturen noch im Tierexperiment beobachtet werden. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der Gasphlegmone.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militär-sanitätskomitees in Wien.]

Von Oberstabsarzt Dr. Ludwig Kamen, Vorstand des Laboratoriums.

Mit 3 Tafeln und 1 Figur im Texte.

(Schluß.)

Meerschweinchen XIV (480 g): 12. I. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur (Pge. X), subkutan. 13. I. Haarausfall am Bauche; daselbst eine schwappende, handtellergröße Blase. Nachmittag große Hinfälligkeit, Exitus nahe bevorstehend. Aspiration des Blaseninhaltes mit Strohschein-Spritze. Tötung des Tieres mit Chloroform. Obduktionsbefund im allgemeinen identisch mit den früheren. Keine Schaumorgane.

Die an die Hauttasche angrenzende Muskulatur von gelblichen, eiterigen Streifen durchzogen. In den Ausstrichen aus dem Eiter massenhafte Gasbacillen. Kulturen aus dem Blaseninhalte (Punktionsflüssigkeit, reich an Gasbacillen) und aus der Milz positiv, enthalten die letzteren in Reinkultur. Kulturen aus Blut und Leber negativ.

1) Ringeling, H. G., Sur la présence des germes de l'œdème malin et du tétanos dans l'eau de la cale d'un navir. (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1895.)

Meerschweinchen XV (320 g): 6. II. 5 ccm 48-stündige Bouillonkultur von Gasbacillus. † am 7. II. zwischen 1 und 3 Uhr nachmittags. Aufbewahrt bei Zimmertemperatur bis 8. II. 9 Uhr vormittags.

Obduktionsbefund analog den früheren. Makroskopisch keine Schaumorgane.

Näher untersucht wurde nur der Blaseninhalt. Derselbe enthielt massenhafte freie grampositive und spärliche kleinere, gramnegative Stäbchen. Daneben relativ reichliche (nahezu in jedem Gesichtsfeld ein bis mehrere, dort wo die Flüssigkeit weniger dünn ausgestrichen war, zahlreiche) Leukocyten, von welchen die meisten mehr oder weniger grampositive und gramnegative Stäbchen enthielten.

Meerschweinchen XVII (652 g): 30. III. 5 ccm 24-stündige Zucker-Bouillonkultur subkutan. 2. IV. krank, strangförmige Infiltration am Bauche. 8. IV. Strang resorbiert.

Meerschweinchen XVIII (340 g): 11. IV. 3 ccm 24-stündige Zucker-Bouillonkultur subkutan. 13. IV. Haarausfall am Bauche nebst einer bohnen großen, gashaltigen Blase. In dem Inhalte zahlreiche Gasbacillen. 21. IV. an Stelle der Blase ein guldenstückgroßes, mit einer dicken Borke bedecktes Geschwür. 28. IV. geheilt.

Meerschweinchen XIX (542 g): 28. IV. eine ganze 24-stündige Kultur auf schieferm Zuckeragar, subkutan. † am 30. IV. Befund typisch. Im Inhalte der Gasblase, aspiriert mit Strohschein, zahlreiche Gasbacillen, häufig auch intracellulär in den mäßig reichlichen Leukocyten. Kulturen aus dem Inhalte der Blase positiv, enthalten den Gasbacillus in Reinkultur.

Der Kadaver wird auf 24 Stunden in den Brutofen (37° C) gelegt. Am 1. V. Obduktion. Kolossale Schaumorgane.

Meerschweinchen XXV (378 g): 20. V. zwei Agarkulturen (24-stündig) intraperitoneal. Bleibt gesund.

Meerschweinchen XXVII (375 g): 29. V. zwei Agarkulturen (24-stündig) intraperitoneal. † am 30. V. (nach 20 Stunden).

Obduktionsbefund: An der Injektionsstelle leichtes, subkutanes Oedem. Im Cavum peritonei reichliche Mengen einer trüben, blutig tingierten Flüssigkeit, das Peritoneum serös durchtränkt, gerötet und mit einzelnen eiterigen Flocken bedeckt. In den Ausstrichen aus den letzteren, massenhafte, teils freie, teils in den zahlreich vorhandenen Leukocyten eingeschlossene Gasbacillen. Kulturen aus dem Peritonealinhalte lieferten den Gasbacillus in Reinkultur.

Meerschweinchen XXIX (282 g): 3. VI. eine halbe Agarkultur (24-stündig) intraperitoneal. Bleibt gesund.

Von den bei der Sektion entnommenen Organen wurden jene des Meerschweinchens VIII, X, XI, XIII, XIV und XV untersucht. Das Resultat dieser Untersuchung wird an einer anderen Stelle besprochen.

Sperling 1: 29. XI. 0,2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur von Gasbacillus in den linken Brustmuskel. I. XII. früh tot aufgefunden. Bei der Obduktion findet man außer einer Rötung der Muskulatur an der Injektionsstelle keine anderweitigen Veränderungen. Spärliche grampositive Stäbchen fanden sich nur im Ausstriche aus dem Brustmuskel, sonst, sowie auch in Kulturen aus Herzblut und Leber nur *Bacterium coli*.

Sperling 2: 29. XI. 0,2 ccm Bouillonkultur des Anaërobiens II. Am 1. XII. früh tot aufgefunden.

Mit Ausnahme einer leichten Rötung an der Injektionsstelle kein abnormer Befund. In mikroskopischen Präparaten aus Herzblut, Muskel

und Leber einzelne gramnegative Stäbchen, Kulturen am 3. XII. noch negativ (hochgeschichteter Zuckeragar).

Sperling 3, 29. XI. 0,2 ccm eines Gemisches von Gasbacillus, Anaërobier II und Staphylokokken in den Brustmuskel. Am 1. XII. früh tot aufgefunden. Ausstriche aus Muskel, Herzblut, Leber negativ. In den Kulturen nur *Bacterium coli*.

Wie ersichtlich, sind die Versuche mit Sperlingen für die Beurteilung der Pathogenität unseres Bakteriums nicht verwertbar.

Taube 1, 29. XI. 1,5 ccm Bouillonkultur von Gasbacillus in den linken Brustmuskel. Keine Reaktion.

Taube 2, 29. XI. 1,5 ccm Bouillonkultur von Anaërobier II in den linken Brustmuskel. Keine Reaktion.

Kaninchen 1 (braun, 3170 g), 7. XII. 1,5 ccm Bouillonkultur von Gasbacillus (intravenös). † in der Nacht vom 8. auf den 9. XII.

Obduktion am 9. XII. um 12 Uhr mittags. Der ganze Körper gedunsen. An dem Ohre keine Veränderung. Das Bauchfell gerötet, in der Bauchhöhle reichliche, trübe, blutig tingierte Flüssigkeit. Die Bauchorgane hyperämisch, keine Schaumorganbildung. Gasbacillen in der Peritonealflüssigkeit massenhaft vorhanden. Daneben mäßig reichliche Leukocyten, keine Phagocytose.

Kulturen (hochgeschichteter Zuckeragar, Schüttelkulturen) lieferten aus dem Herzblute (3 Oesen) 2 Kolonien, aus Leber, Peritonealinhalt, Milz reichlich Gasbacillen in Reinkultur.

Kaninchen 2 (weiß, 3085 g), 16. XII. 2 ccm 3-tägige Bouillonkultur von Gasbacillus intravenös. Keine Reaktion.

Kaninchen 3 (grau, 3100 g), 23. XII. 4 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Gasbacillus intravenös. Keine Reaktion.

Kaninchen 4 (grau, 2010 g), 29. XII. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Gasbacillus (Pge. Meerschw. 10) intravenös. Eingegangen am 25. I. an Coccidiose.

Kaninchen 5 (grau, 3230 g), 29. XII. 5 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Anaërobier II intravenös. Keine Reaktion.

Kaninchen 6 (grau, 3200 g), 2. I. 10 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Gasbacillus subkutan am Bauche.

6. I. Drüsenschwellung in der Umgebung der Injektionsstelle.

12. I. resorbiert.

Wie der Ausgang der Tierversuche lehrt, konnte ein positiver Erfolg sicher nur beim Meerschweinchen und bei Anwendung höherer Dosen (5 ccm) einer 1–3-tägigen Zuckerbouillonkultur erzielt werden. Die Tauben und Kaninchen erwiesen sich im allgemeinen als refraktär. Der eine positive Ausgang beim Kaninchen 1 muß auf eine ganz besondere individuelle Disposition des Tieres zurückgeführt werden, und dürfte die letztere bei dieser Tierart dieselbe Rolle spielen, wie beim Menschen, bei welchem die Gasgangrän auch in der vorantiseptischen Ära nicht gerade zu den häufigsten Wundinfektionskrankheiten gehörte.

Die makroskopisch wahrnehmbaren pathologischen Veränderungen beim Meerschweinchen waren in allen Versuchen vollkommen übereinstimmend. Sie bestanden:

- 1) im Haarausfall über der Brust und dem Bauche,
- 2) in einer mehr oder weniger ausgedehnten blasenartigen Abhebung der Haut von der Unterlage mit Ansammlung eines, massenhaft Bacillen enthaltenden, häufig genug zellreichen Transsudates in der so entstandenen Blase.
- 3) in einer hochgradigen Degeneration der angrenzenden Muskulatur,

welche durch die Bezeichnung „zunderartiger Zerfall“ richtig charakterisiert erscheint.

Am 16. IV. 1903 wurde mir vom Prosektor des Garnisonsspitals No. 1, Herrn Regimentsarzt Dr. Brosch, in liebenswürdiger Weise eine Schaumleber abgetreten, welche nebst den charakteristischen Gasblasen auch multiple Leberabscesse zeigte. Die Ausstriche aus dem Eiter zeigten vorwiegend ein Coli-ähnliches Bakterium nebst mäßig reichlichen, grampositiven, morphologisch mit den Gasbacillen identischen Stäbchen. In den Ausstrichen aus dem Leberparenchym waren die letzteren massenhaft nahezu in Reinkultur enthalten.

Durch die Anwendung von Aufstrichen auf Zuckeragarplatten, aufbewahrt nach der eingangs geschilderten Methode, gelang es, aus dem Lebersafte Kolonien geradezu in Reinkultur zu erhalten, welche mit denen des Gasbacillus vollkommen identisch waren. Die sonstigen kulturellen Eigenschaften dieses zweiten Stammes deckten sich mit jenen des ersten vollkommen. Kein anderes Resultat haben auch die Tierversuche ergeben.

Meerschweinchen XX, 530 g. 28. IV. eine ganze 24 Stunden alte Zuckeragarkultur subkutan.

30. VI. munter.

1. V. Am Bauche eine leichte Schwellung und Abhebung der Haut.

2. V. in der Nacht †.

Obduktionsbefund: Am Bauche schwacher Haarausfall. Dasselbst eine ausgebreitete, gashaltige Blase, enthaltend eine trübe, blutig tingierte Flüssigkeit.

In den daraus hergestellten Deckglaspräparaten zahlreiche Gasbacillen zum Teil in den mäßig reichlichen Leukocyten eingeschlossen. Aufstriche auf Zuckeragarplatten (anaërob) ergaben aus dem Blaseninhalte reichliche Gasbacillen in Reinkultur.

Meerschweinchen XXI, 423 g. 1. V. 3 Agarkulturen (24-stündig) von Gasbacillus B, subkutan.

8. V. deutliche Infiltration an der Infektionsstelle.

9. V. Zerfall der Infiltration in ein guldenstückgroßes Geschwür.

29. V. Geschwür mit einer leicht strahligen Narbe geheilt.

Wenn also in dem einen Falle der Fraenkelsche Gasbacillus als der Erreger der im Anschluß an einen komplizierten Knochenbruch aufgetretenen foudroyanten Gangrän sicher erwiesen wurde, erschienen unsere Untersuchungen hiermit noch immer nicht erschöpft, insofern, als es galt, an eine ganze Reihe von Fragen heranzutreten, welche sich an die Klassifikation dieses Mikroorganismus und dessen pathogenes Vermögen knüpfen.

Diese Fragen sind:

1) Ist der Fraenkelsche Gasbacillus identisch mit dem *Granulobacillus immobilis* Schattenfroh und Grassberger¹⁾, bzw. wie diese Autoren sagen, eine pathogene Abart des letzteren?

2) Ist die Wirkung des Gasbacillus im Tierkörper eine toxische, entzündungserregende, oder besteht dieselbe, wie Hirschmann und Lindenthal behaupten, in einer Vergärung der Eiweißstoffe des Körpers?

3) Findet die Gasbildung in den inneren Organen *intra vitam* statt oder ist sie eine postmortale Erscheinung?

1) Jetzt „unbeweglicher Buttersäurebacillus“ genannt.

Zur Beantwortung dieser Fragen erscheint es zunächst unerlässlich, die Ansichten der einzelnen maßgebenden Autoren einander gegenüberzustellen.

Der *Granulobacillus immobilis* ist nach Schattenfroh und Grassberger durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet:

Morphologie: Teils kürzere, 7—11 μ lange, 1,0—1,4 μ dicke Bacillen, teils längere Scheinfäden (aus Kolonien Typus A, d. h. Kolonien mit langen Randschlingen). Aus Kolonien Typus B, d. h. solchen mit glattem oder gezähntem Rand, gewinnt man zumeist kürzere und dünnere Formen.

Bei beiden Typen finden sich immer, aber sehr vereinzelt, abnorm kurze (2—3 μ) und breite (bis 1,7 μ) Exemplare von ovaler Gestalt.

Im hängenden Tropfen findet man nicht selten an einem Ende kolbig verdickte, halbmondförmige Exemplare und solche, welche an einer Stelle mehrfach spiralig zusammengedreht sind.

Besonders ausgeprägt ist die Scheinfadenbildung in Zuckergelatine.

In Milch wiegen im allgemeinen die kürzeren Formen vor (3—8 μ lang und 1,5 μ dick).

Besonders dicke und kurze Bacillen bilden sich auf Kartoffeln (5—6—12 μ lang, 1,5—2 μ).

Färbbarkeit: Färbt sich leicht mit den gebräuchlichen Anilinfärblösungen. Nach Gram färbbar, doch widerstehen einzelne Individuen einer längeren Entfärbung nicht.

Sporenbildung findet auf den gewöhnlichen Nährsubstraten nicht statt. Bei Anwendung von Stärkekleisteragar (1 $\frac{0}{00}$ Reisstärke) und einem Optimum von Alkaleszenz des Nährbodens, welches man durch einen Kulturversuch feststellen muß, wird eine glatte Versporung erzielt. Mitunter findet das Wachstum auf diesem Nährboden rasch und stürmisch statt; in diesem Falle ist die Versporung eine schlechtere. Die Sporenbildung beginnt bei Bruttemperatur schon 7—10 Stunden nach der Aussaat. 24 Stunden nach der Aussaat findet man zahlreiche Stäbchen mit reifen, zumeist endständigen ovalen Sporen. Die freien Sporen sind bis 2 μ breit und 2,3 μ lang. Findet die Versporung nicht in den 24 bis 48 Stunden nach der Aussaat statt, dann tritt sie in der Kultur überhaupt nicht ein. Gleichzeitig mit der Versporung tritt in den Stäbchen Granulose auf, welche leicht durch Färbung mit der Lugolschen Lösung nachzuweisen ist.

Kulturelle Merkmale: Strenger Anaerobier mit einer Temperaturbreite zwischen 16—40° C, Temperaturoptimum bei 37° C.

Auf Zuckeragarplatten, die viel Material enthalten und diffus getrübt sind, treten Gasblasen auf, welche den Nährboden stellenweise von der Unterlage abheben. Die oberflächlichen Plattenkolonien zeigen zwei Typen: Typus A: kreisrund (nach 20 Stunden schon 1 mm im Durchmesser), mit einem kompakten, runden oder wetzsteinförmigen Vegetationszentrum mit granuliertem Rande; bei 50-facher Vergrößerung sieht man am Rande zahlreiche Fadenschlingen.

Typus B: rund, mit granuliertem Zentrum, glattem, in der Regel doppelt konturiertem Rande. Manchmal ist derselbe fein gezähnt. Die tiefen Kolonien sind zumeist rundlich oder wetzsteinförmig, ab und zu mit unregelmäßigen Ausläufern besetzt.

Auf Peptonagar ohne Zuckerzusatz dieselben Kolonien, aber ohne Gasbildung und Buttersäuregeruch.

Auf Zuckergelatineplatten bei 22—23° C rundliche, kompakte Kolonien, welche nach 8 Tagen von einem klaren Verflüssigungshofe umgeben sind.

Auf schrägem Agar bei strenger Einhaltung der anaëroben Bedingungen ein weißer Rasen. In Zuckeragarstrich Entwicklung im Stichkanale, verschieden nahe der Oberfläche unter Entwicklung von Gasblasen, welche aber selten zur Zerklüftung des Agars führen.

In Zuckergelatinestich krümeliges Wachstum mit trichterförmiger Verflüssigung der Gelatine.

Auf Kartoffeln nach 8 Tagen gelblichweiße, opake Knöpfchen; doch auch außerhalb derselben auf scheinbar unveränderten Stellen Vermehrung.

Im U sch i n s k y s c h e n Nährboden kein Wachstum.

In Bouillon ohne Zucker- oder Stärkezusatz kümmerliches Wachstum.

Besseres Wachstum mit spärlicher Gasbildung in 2-proz. Glycerinpeptonbouillon.

In Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. Stärkekleister, lösliche Stärke, Dextrose, Saccharose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Laktose vorzügliches Wachstum unter Gasbildung. Der Milchzucker scheint schwerer angegriffen zu werden als in der Milch selbst.

In Milch üppiges Wachstum unter Gasbildung und Gerinnung. Als Gärungsprodukte entstehen: Buttersäure, Kohlensäure, Wasserstoff und Rechtsmilchsäure neben geringen Mengen von Alkoholen und Ameisensäure, vielleicht auch Essig- und Valeriansäure.

Pathogenität: null.

Diese Angabe bezieht sich aber nur auf die ersten, aus der Milch gezüchteten Stämme, die trotz enormer Mengen von Infektionsmaterial (10 ccm Bouillonkultur intraperitoneal) bei Meerschweinchen keinerlei Krankheitserscheinungen hervorriefen.

Hingegen konnten die Verfasser später aus der Erde durch Anreicherung in sterilisierter Milch einen Stamm gewinnen, welcher bei gleichen morphologischen und kulturellen Eigenschaften eine so hohe Virulenz zeigte, daß eine kleine Oese einer 24-stündigen Zuckeragarkultur bei subkutaner Applikation ein Tier unter dem typischen Bilde der progredienten Gasphegmone tötete.

Unter Zugrundelegung sämtlicher einschlägiger Arbeiten des Autors der nachfolgenden Beschreibung, trägt der Gasbacillus nach Fraenkel folgende Eigenschaften:

Morphologie: Meist kurzes, etwas plumpes, mit abgerundeten Enden versehenes, unbewegliches Stäbchen, dessen Dicke jener des Milzbrandbacillus nahezu gleich sein dürfte. Häufig Diplobacillen und Fäden, namentlich in Gelatinekulturen.

Sporen kamen nur einmal in einer 24-stündigen Agarkultur mit Zusatz von ameisen-saurem Natrium zur Beobachtung. Auf nach Schattentfroh und Grassberger hergestelltem Stärkeagar nie.

Ist mit den gebräuchlichen Anilinfarben und nach Gram ausnahmslos färbbar.

Kulturelle Eigenschaften: Strenger Anaërobier, der am besten durch die Anwendung von Zuckeragarplatten unter Wasserstoff reinzuzüchten ist. Bei reichlicher Gasbildung entstehen auf der Platte Gasblasen, welche nicht selten bis zu 1 cm Durchmesser besitzen.

Kolonien sind wenig charakteristisch, rundlich elliptisch, wetzsteinförmig, mit dunkelbraunem Zentrum und hellerer, wie aus feinstem Faserwerk bestehender Peripherie.

In Zuckeragarstich bei 37° C üppiges Wachstum und lebhafte Gasbildung, durch welche der Agarcyylinder zerrissen und zerklüftet wird.

Die Kultur entwickelt einen penetranten Fötör nach Schwefelwasserstoff und flüchtigen Fettsäuren.

Auf schrägem Agar eine grauweiße, fadenziehende Masse.

Auf Nährgelatine nach 48 Stunden kleine, rundliche, bräunlichgelbe, leicht granuliert Kolonien, welche sich nach weiteren 1—2 Tagen mit einer Luftblase umgeben.

Dasselbe in Gelatineschüttelkulturen; nur ist hier die Gasbildung geringer als in Agar.

In Zuckergelatinestichkulturen ab und zu Gasbildung und eine sehr rasch entlang dem ganzen Impfstich zu stande kommende Verflüssigung.

Auf schräg erstarrtem Serum reichliche Gasproduktion und fötide Zersetzung des Serums.

Auf Kartoffeln kümmerliches Wachstum in Form einer grauweißen Auflagerung.

In Bouillon mit 0,5 Proz. Natrium form. oder 1 Proz. Traubenzuckerzusatz unwesentliche Trübung der Flüssigkeit, Ablagerung eines niedrigen Sediments und Gasbildung.

In Milch Koagulation schon nach 24 Stunden unter gleichzeitiger Gasbildung.

Die Lebensdauer ist in Kulturen, die nicht unter Wasserstoff gehalten sind, kurz, indem die Bacillen in 2—3 Tagen absterben. In Gelatinekulturen, welche vor dem Austrocknen geschützt sind, bleiben die Stäbchen auch durch mehrere Wochen lebensfähig.

Pathogenität: Das bei weitem empfänglichste Tier ist das Meer-schweinchen.

Dasselbe reagiert auf subkutane Impfung am Bauche teils mit einem lokalen, ausheilenden, teils mit einem in ein bis wenigen Tagen zum Tode führenden Affekte. Derselbe besteht in:

- 1) schmerzhafter Infiltration an der Injektionsstelle.
- 2) Mehr oder weniger massenhafter Exsudation hämorrhagischer, fleischwasserartiger Flüssigkeit.
- 3) Anwesenheit von Gas im Bereich der entzündeten Partie.
- 4) In zunderartigem Zerfall der angrenzenden Muskulatur.

Das Exsudat ist in der Regel zellarm. Ab und zu findet man die Bacillen in den Leukocyten eingelagert.

In Organschnitten läßt sich

1) Aufquellung und Auseinanderdrängung der Bindegewebsfasern des subkutanen Gewebes und die Anwesenheit spärlicher, gut gefärbter zelliger Elemente;

2) ein ähnlicher Befund an den Muskelbündeln konstatieren. In einzelnen Bezirken findet man kleinzellige Infiltrate. Die einzelnen Muskelbündel zerfallen teils der Länge, teils der Quere nach und schließlich in eine amorphe, bröcklige Masse.

3) Die Bacillen findet man in dem Gewebe vorwiegend zwischen Subcutis und Muskulatur.

4) In den inneren Organen findet man sie, falls letztere unverändert erscheinen, nicht. Nur wenn man die Tiere eine längere Zeit (24 Stunden bei Zimmertemperatur) liegen läßt, kommt es zur Bildung von Schaumorganen, in denen die Bacillen zumeist einen Saum um die Gasblasen bilden. Dasselbe Bild ist erhältlich, wenn man die Bacillen einem Kaninchen intravenös injiziert, das Tier bald darauf tötet und über Nacht im Thermostaten liegen läßt. Die Gasbildung geht indessen nicht immer mit derselben Vehemenz vor sich.

Ebenso inkonstant sind die Veränderungen der Organzellen, indem

sie einmal einer Degeneration anheimfallen, bei welcher keine Kernfärbung zu erzielen ist, das andere Mal sich die Kerne prompt färben.

Fraenkel nimmt daher an, daß es sich bei der Gangrène foudroyante um einen phlegmonösen, entzündlichen Prozeß handelt, dessen hervorstechendstes Merkmal die Gasbildung in den Geweben und Zerfall der Muskelsubstanz bildet, und bei welchem der Tod des Individuums schließlich durch die lokal im Bereiche der Erkrankung aufgespeicherten toxischen Substanzen herbeigeführt wird.

Die Beschreibung des Gasbacillus von Hirschmann und Lindenthal stimmt, was seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften anbelangt, mit jener von Fraenkel überein.

Sie heben nur hervor, daß schon frühzeitig in den Formen Kulturen auftreten, welche die Gramsche Färbung nicht annehmen, und fassen dieselben als Degenerationsformen auf. Auch diese Autoren haben in Kulturen nie Sporenbildung beobachtet, wohl aber in einem Falle in Deckglasausstrichen aus Muskelsaft sporulierte Stäbchen gefunden, welche grampositiv waren. Da es ihnen nicht gelungen ist, neben dem Gasbacillus eine zweite grampositive, aber sporenbildende Art zu züchten, sind sie geneigt anzunehmen, daß diese gefundenen Mikroorganismen einer Art angehören.

Ein grundsätzlicher Unterschied besteht jedoch zwischen ihrer und der Fraenkelschen Auffassung über die Wirkungsweise des Erregers der foudroyanten Gangrän.

Während Fraenkel, gestützt auf seine Befunde, insbesondere auf die von ihm häufiger vorgefundene kleinzellige Infiltration in der Subcutis und Zwischenmuskelgewebe, sowie Mangel an Degenerationserscheinungen an den Organzellen trotz ausgesprochenen Vorhandenseins von Schaumorganen und nachweisbarer Bakterieninvasion, diesen Prozeß als einen entzündlichen auffaßt, welcher sich von den gewöhnlichen Phlegmonen durch den Mangel von Eiterung und durch die Gasbildung unterscheidet, fassen H. und L. die von ihnen gesehenen Vorgänge nicht als Entzündung, sondern als Nekrose der Gewebe auf, welche durch die Gärtätigkeit des Bacillus zu stande kommt und von den Autoren als „Vergärungsnekrose“ bezeichnet wird. Sie stützen ihre Ansicht hauptsächlich darauf, daß sie in Fällen, wo nur eine Reininfektion mit dem spezifischen Bakterium vorlag, nie eine nennenswerte entzündliche Infiltration gesehen haben und eine solche nur dann nachzuweisen war, wenn eine Mischinfektion mit pyogenen Kokken nachweisbar war.

Eine Bresche riß in diese Auffassung ein von den Verfassern beobachteter Fall von Meningitis, erzeugt durch unseren Bacillus, in welchem die Untersuchung das typische Bild einer eiterigen Meningitis und Befund von Bacillen überall dort, wo entzündliche Veränderungen vorkamen, ergab.

Ueber diesen Widerspruch helfen sich die Autoren dadurch hinweg, daß sie annehmen, daß die Stäbchen in den Meningen eine andere Wirkung entfalten, als im subkutanen und dem Muskelgewebe.

Den Unterschied erklären sie dahin, daß die Meningen reines Bindegewebe darstellen, daher nur schwer oder gar nicht vergärbar sind, während das Muskelgewebe glykogenhaltig ist. Also auf der einen Seite Nekrose, auf der anderen Eiterung als Ausdruck für die spezifische Reaktion der Gewebe auf den bakteriellen Reiz.

In seiner letzten Publikation über diesen Gegenstand teilt nun Fraenkel einen Fall von Komminutivfraktur mit, in welchem auch in dem Unterhautzellgewebe, im Corium und im intramuskulären Ge-

webe zahlreichere, kleinere und größere kleinzellige Infiltrationsherde vorhanden waren. Er wendet sich daher gegen die Auffassung der vorgenannten Autoren, daß die Wirkung des Gasbacillus nur eine „Vergärungsnekrose“ wäre.

Wäre dies der Fall, so müßte man im toten Gewebe dieselben Erscheinungen hervorrufen können, wie im lebenden. Injiziert man jedoch einem Meerschweinchen subkutan den Gasbacillus und tötet das Tier kurze Zeit darauf, so wird zwar lokal Gasbildung beobachtet, aber kein Flüssigkeitsaustritt in das Gewebe und kein zunderartiger Zerfall der Muskulatur. Ebenso wenig werden an den inneren Organen, in denen die Schaumbildung in erheblicher Weise post mortem stattfindet, häufig keinerlei Degenerationserscheinungen beobachtet, was bei einer Vergärungsnekrose wohl immer der Fall sein müßte.

Demgegenüber sind nach Hirschmann und Lindenthal die allgemeinen pathologischen Veränderungen in Fällen, wo es nicht zur Einwanderung in die inneren Organe gekommen ist, dieselben, wie sie bei anderen infektiösen und toxischen Erkrankungen vorkommen. Es sind dies: trübe Schwellung eventuell fettige Degeneration der Leber, Niere und des Herzmuskels, Injektion und kleine Blutungen an den Schleimhäuten des Larynx, Magens, Darmes, Endo- und Pericardium, Pleura. Die Lunge selbst öfters ohne Veränderung. Die Milz nicht vergrößert, ebenso die Lymphdrüsen. Die foudroyante Gangrän ist demnach eine lokalisierte Infektion; die allgemeinen Erscheinungen sind als Intoxikation aufzufassen. Als Stütze für diese Anschauung führen die Autoren noch an, daß in Fällen, wo die Obduktion unmittelbar post mortem gemacht wurde, aus dem Herzblute gar keine oder nur vereinzelt Kolonien durch Kultur nachgewiesen werden konnten. Ueber den mikroskopischen Befund von Stäbchen im Blute bei Tieren, welche unmittelbar nach dem Tode obduziert wurden, sagen sie auf p. 124 ihrer Monographie: „... so fanden wir in Milz, Leber und Herzblut mikroskopisch niemals Bakterien...“. Auf p. 126: „... so konnten mikroskopisch und kulturell in Leber, Milz und Herzblut entweder gar keine oder nur vereinzelt Stäbchen nachgewiesen werden“. Auf p. 142 sagen sie endlich: „Es gelang fast immer unmittelbar post mortem im Herzblute, wenn auch sehr spärliche, Kolonien in der Kultur nachzuweisen, während die Deckglaspräparate sehr häufig auch bei genauerer Durchsicht gar keine Stäbchen zeigten.“ Ich hebe diesen nicht sehr wesentlichen Widerspruch nur deshalb hervor, weil nur die Behauptung, daß bei frisch obduzierten Tieren die Stäbchen im Blute mikroskopisch niemals nachweisbar wären, mit meinen Befunden übereinstimmt.

In den neuesten Arbeiten über diesen Gegenstand finden wir wohl keine Klärung der Ansichten, sondern nur einen mehr oder weniger innigen Anschluß an die eine oder andere der geschilderten Hauptrichtungen.

Besonders hervorzuheben wären die aus dem Jahre 1902 stammenden Arbeiten von Paul Albrecht, Silberschmidt, Stolz, Landler, Westenhoeffer und die im Jahre 1903 erschienenen Mitteilungen von Legros.

Die Arbeit von Albrecht ist insofern von Wichtigkeit, als wir darin lesen können, daß es ihm mit Leichtigkeit gelungen ist, was die gewichtigsten Untersucher vor ihm nicht im stande waren, und zwar, wenn auch inkonstant, bei dem Fraenkelschen Bacillus erstens Kapseln und zweitens Sporen nachzuweisen; erstere mit Hilfe der Moellerschen Sporenfärbung, letztere nach Schattenfroh und Grassberger

auf alkalisiertem Stärkeagar. Ich finde es nur bedauerlich, daß uns der Autor nicht diese so wichtigen Resultate in Abbildungen vorgeführt hat.

In zwei rasch aufeinanderfolgenden Mitteilungen werden wir mit dem Standpunkte bekannt gemacht, welchen Westenhoeffer der Natur der Schaumorgane und der Gasphegmone gegenüber einnimmt.

In der ersten Arbeit, welche 5 Fälle von Schaumorganen behandelt, von denen 2 den Gasbacillus enthielten, kommt er zu dem Schlusse, daß dieselben keinerlei Entzündungserscheinungen erkennen lassen, und daß sie einzig und allein kadaveröser Natur seien. Die häufig anzutreffende mangelhafte Kernfärbung sei nicht auf eine vitale Tätigkeit der Bacillen zurückzuführen, sondern auf physikalische und chemische Ursachen, wie Feuchtigkeit, Wärme, Toxine. Die Gasbildner könnten nur auf totem Gewebe Gas produzieren.

In seiner zweiten Arbeit ändert er seinen Standpunkt, welcher in der Negierung sowohl der Entzündungserscheinungen als auch der „Vergärungsnekrose“ gipfelt, dahin, daß er zugibt, daß sich die Gasbacillen zwar schon *intra vitam* in den Organen festsetzen können, daß aber eine Vermehrung an diesen Ansiedelungen nur *postmortal* stattfindet.

Sandler, welcher in keinen der 2 von ihm beschriebenen Fällen von Gasgangrän und Schaumorganen Reinkulturen des Fraenkelschen Bacillus erzielte, gibt eine detaillierte Beschreibung des pathologisch-histologischen Befundes. Auch er konnte das Fehlen entzündlicher Erscheinungen konstatieren; kleine Rundzellenhaufen fanden sich nur in der *Capsula Glissonii*, manchmal auch im Zentrum der Leberläppchen vor.

Kernschwund konnte in der Leber überall dort nachgewiesen werden, wo Bacillenhaufen lagen.

In der Milz waren Pilzkolonien in nekrotischen Herden eingebettet.

Die Niere zeigte Koagulationsnekrose der Harnkanälchenepithelien.

Der Muskel zeigt Degeneration ohne entzündliche Erscheinungen.

Die Gasphegmone sei demnach ein Prozeß, bei welchem neben tiefergehender Nekrose primäre Gasbildung stattfindet.

Bei den Schaumorganen findet die Einwanderung der Bakterien in die inneren Organe präagonal statt (Ernst) und diese rufen Degeneration, *post mortem* aber auch Gasbildung hervor.

Sehr eingehend befaßt sich Legros in seiner histologischen Arbeit mit den Veränderungen, die bei der Gasgangrän *in loco morbi* entstehen.

Gemäß seinen Befunden, nach welchen die Gasgangrän kein spezifischer Prozeß sei und sowohl von aëroben als auch anaëroben Bakterien erzeugt werden könne, findet er auch, daß die Veränderungen, welche bei der experimentellen Gasgangrän beim Meerschweinchen vorgefunden werden, in beiden Fällen identisch sind, und daß sie nur dann gewisse graduelle Unterschiede zeigen, wenn die Virulenz der verwendeten Stämme eine verschiedene war. Die Eigenschaft des Bakteriums als Aëro- oder Anaërobier spielen hier keine Rolle.

Danach unterscheidet er zwei Typen von Gasgangrän am Meerschweinchen und zwar:

1) jene, welche durch sehr virulente Bakterien erzeugt wird, und binnen 24—48 Stunden den Tod der Tiere herbeiführt;

2) jene Form, welche durch wenige virulente Stämme hervorgerufen wird, in einem lokalen Affekt besteht, der 30 Stunden nach der Inokulation den Höhepunkt erreicht, zur Geschwürsbildung führt und schon nach dem 3. Tage sich zurückzubilden beginnt.

I. Typus. Die anatomischen Veränderungen bestehen in einer perakuten Myositis mit Ausgang in hyaline, wachsartige, körnige und

fettige Degeneration. Bei dem überaus schnellen Verlaufe trifft man in der Regel nur Koagulationsnekrose des Myoplasmas (quergestreifter Muskel), während die accessorische Hypertrophie des Sarkoplasmas (nicht differenziertes Protoplasma, welches der Ernährung vorsteht) fehlt.

Die Muskelfasern erscheinen an Längsschnitten in Form von Bruchstücken von ungleicher Länge, mit dem Aussehen von Spindeln, manchmal in Scheiben zerfallen; die Längs- und Querstreifung zumeist geschwunden. Häufig sind die Fibrillen von einer Reinkultur der Stäbchen umgeben.

Keine Vermehrung der Kerne, keine Leukocytenansammlung, oder nur in beschränktem Maße.

Die manchmal vorhandene fettige Degeneration der Muskeln läßt sich am besten an mit Osmiumsäure behandelten Querschnitten nachweisen.

II. Typus. Die bei diesem Typus vorkommenden Veränderungen lassen sich am besten studieren, wenn man die Tiere einmal 50 Stunden, das andere Mal 5 Tage nach der Infektion tötet.

Im ersten Falle findet man dieselben Veränderungen der Muskelfasern, wie beim I. Typus, aber auch daneben deutliche Erscheinungen der Hyperplasie des Sarkoplasmas (Vermehrung der Zellkerne) nebst reichlicher Einwanderung von Leukocyten.

Tötet man die Tiere hingegen nach 5 Tagen, sind die Fasern noch von Bacillen umgeben, sie zeigen jedoch außer Kernvermehrung auch schon beginnende Narbenbildung.

Die Veränderungen bei der Gasegangrän des Menschen entsprechen in der Regel mehr dem II. Typus der Meerschweinchengangrän, sind aber weniger gleichmäßig verteilt. Man findet:

- 1) eine einfache Hypertrophie der Fibrillen mit Kernvermehrung;
- 2) trübe Schwellung derselben, häufig mit wachsartigem Aussehen der Fasern, welche vom Rande ausgeht, die Mitte jedoch unversehrt läßt;
- 3) körnige und fettige Degeneration und
- 4) Fragmentation in Disken.

Häufig findet man eine besondere Art von Entartung, welche von der körnigen Degeneration verschieden ist. Sie äußert sich

- 1) in Hypertrophie und Zerfall der Muskelfasern in longitudinale, wellenförmig gestaltete Segmente mit fehlender Querstreifung;
- 2) in allmähliche Resorption der Fibrillen bei erhaltenen Kernen.

An Querschnitten findet man an Stellen, wo diese Veränderungen vollendet sind, nur leere Scheiden, in deren Umgebung bald wachsartige, bald gut erhaltene, manchmal aber auch vakuolisierte Muskelfasern verteilt sind.

Immer findet man aber auch daneben wichtige Gefäßveränderungen als: obliterierende Endophlebitis, fettige Degeneration der Kapillaren, proliferierende Endarteritis mit Mesarteritis und vakuolisiertem Zustande der glatten Muskelfasern. Berücksichtigt man einen ähnlichen, bei den quergestreiften Muskeln manchmal anzutreffenden Zustand, so wäre man geneigt, diese Veränderung der glatten Fasern für homolog mit jener der quergestreiften anzusehen.

Wie daraus ersichtlich ist, befaßt sich der Verfasser mit der Wirkung der Gangränerreger in den inneren Organen nicht; ebensowenig spricht er sich dezidiert darüber aus, ob er die vorhandenen Veränderungen für entzündlich halte, oder nicht. Allerdings kann man schon aus der Beschreibung der Gefäßveränderungen entnehmen, daß er an eine entzündliche Affektion denkt; so scheint ihm übrigens die Ansicht Hitschmanns und Lindenthals über den Charakter des Prozesses ganz un-

bekannt zu sein, da er in seiner erst im Jahre 1902 erschienenen These nur die von den vorgenannten Autoren am XXVIII. deutschen chirurgischen Kongreß 1899 gemachte Mitteilung, nicht aber die späteren, weit wichtigeren, Arbeiten zitiert.

Bei der geringen Uebereinstimmung der einzelnen Autoren über die Wirkungsweise der Gangränerreger, im besonderen des Fraenkelschen Gasbacillus, drängte sich einerseits uns von selbst der Wunsch auf, die sich bietende Gelegenheit zur Klärung dieses strittigen Punktes zu benutzen; andererseits erschien es aber auch notwendig, die vorzunehmenden Untersuchungen nach einer bestimmten, durch folgende zu erledigenden Fragen gegebenen Richtung zu lenken:

1) Sind zwischen dem Gasbacillus und dem Granulobacillus immobilis morphologische und kulturelle Differenzen nachweisbar?

2) Wie verhält sich der Gasbacillus zur Sporenbildung?

3) Sind an den Organen der an Gasgangrän eingegangenen Tiere entzündliche Erscheinungen nachweisbar?

4) Sind die allgemeinen Erscheinungen und der Exitus auf eine Intoxikation zurückzuführen?

5) Sind dafür Anzeichen vorhanden, daß ein Eindringen der Bacillen in die inneren Organe schon intra vitam stattfindet?

Was die morphologischen Eigenschaften anbelangt, so ist nicht zu leugnen, daß auf Grund der eingangs enthaltenen Schilderung derselben eine große Uebereinstimmung zwischen dem Gasbacillus und dem Granulobacillus herrscht. Auch in Bezug auf das kulturelle Verhalten kann man das Vorhandensein vieler gemeinschaftlicher Merkmale konstatieren. In letzterer Beziehung findet man aber schon Differenzen. Dies gilt in erster Richtung von dem Verhalten in Traubenzuckergelatine. Dasselbst wächst der Granulobacillus in Form krümeliger Massen unter gleichzeitiger trichterförmiger Verflüssigung des Nährbodens. Nach Hirschmann und Lindenthal beginnt die Verflüssigung der Gasbacilluskultur am 4. Tage. Nach Fraenkel ist die Verflüssigung und Gasbildung in diesem Nährboden eine inkonstante Eigenschaft und wahrscheinlich von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig.

Unser Stamm A (Gasgangrän), welcher auch nach vielfachen Passagen keinerlei Abweichungen in seinem Verhalten zeigt, wächst in Traubenzuckergelatine streng anaërob. Die ersten Zeichen von Gasbildung treten gewöhnlich am 6.—7. Tage auf. Verflüssigung ist zunächst keine bemerkbar; erst später erlangt die Gelatine eine weichere Konsistenz und äußert sich dies zunächst dadurch, daß die Fadenschleifen infolge des geringeren Widerstandes, den sie finden, zu langen Borsten auswachsen. Ist das Röhrchen durch einen Kautschuckstoppel (Kappe) gegen Verdunstung geschützt, denn bleibt die Gelatine dickflüssig; bei stattfindender Verdunstung entstehen schließlich Hohlräume in der zerklüfteten Gelatine.

Der Stamm B (Leberabsceß) ist im allgemeinen mit einem energischeren Verflüssigungsvermögen ausgestattet.

In den ersten Generationen sah man öfters, und zwar nach 5 bis 6 Tagen, die Gelatine längs des Stichkanales strumpfförmig verflüssigt. Die weiteren Generationen zeigten jedoch der Gelatine gegenüber dasselbe Verhalten, wie der Stamm A.

Ich glaube daher, daß graduelle Unterschiede in Bezug auf die Verflüssigung der Gelatine nicht nur eine Eigentümlichkeit der einzelnen Rassen bilden, sondern auch von der Zusammensetzung, namentlich von

der Festigkeit der Gelatine und von jenen Umständen abhängen, welche die letztere bedingen, also von der Art der Sterilisierung und von der Züchtungstemperatur.

Kulturen in 5-proz. Traubenzuckergelatine bei 20—22° C gehalten, lassen ausnahmslos Verflüssigung und Borstenbildung erkennen.

Auf diese Weise lassen sich auch ungezungen die voneinander so differierenden Angaben der verschiedenen Autoren erklären, und es kann demnach die Art der Verflüssigung kein differentielles Merkmal zwischen Gas- und Granulobacillus bilden.

Was die Zuckeragarplattenkolonien anbelangt, so könnte man auch hier, wie dies Schattenfroh und Grassberger tun, zwei Typen unterscheiden. Typus A kreisrund mit granuliertem Rand, und Typus B mit büschelartigen, vom Rande ausgehenden Ausläufern. Wenn auch wegen des verschiedenen Aussehens dieser Kolonien die ausdrückliche Erwähnung dieser Wachstumsart unbedingt notwendig ist, glaube ich darin keine besondere Eigenart erblicken zu müssen, da dieselbe lediglich von der Feuchtigkeit des Nährbodens abhängig sein dürfte, sowie von der verschiedenen Härte des Agars, dessen Konsistenz, wie bei der Gelatine, nicht allein von dem Agarzusatz, sondern auch von der Länge des Kochens und des Filtrierens abhängig ist.

Bei großem Reichtum an Kolonien pflegen auch die tiefen eine unregelmäßige, vielfach verzweigte Form zu zeigen.

Auf gewöhnlichem Agar so gut wie kein Wachstum, der Granulobacillus wächst hingegen nach Sch. und Gr. ziemlich üppig.

In Peptonbouillon ebensowenig Wachstum wie im Agar.

Im erstarrten Blutserum üppiges Wachstum unter lebhafter Gasbildung. Dasselbe ist jedoch, wie bekannt, nicht zuckerfrei.

Zur Prüfung der Angabe von Hitschmann und Lindenthal, deren Stämme angeblich auch auf eiweißhaltigen oder zuckerfreien Nährböden (ohne nähere Bezeichnung derselben) wuchsen, schien mir die Kultur im rohen Ei nach Hueppe als recht geeignet. Ich habe im ganzen 6mal den Versuch gemacht, war jedoch nicht in der Lage, ein nennenswertes Wachstum, geschweige denn Gasbildung zu beobachten.

Auf Kartoffeln aufbewahrt nach Buchner, unsichtbares, wenig üppiges Wachstum.

In Milch trat Wachstum nur dann ein, wenn dieselbe durch eine Paraffinschicht von der äußeren Luft abgeschlossen oder wenn nach der Einsaat Wasserstoff durchgeleitet wurde.

Unter heftiger Gasbildung zeigten sich mitunter schon nach 24, zu meist aber erst nach 48 Stunden die ersten Spuren der Gerinnung. Nach 3—4 Tagen ist das ganze Kasein ausgefällt und schwimmt zum Teil als eine zusammenhängende, von Gasblasen durchsetzte, schwammige Masse auf dem Serum, zum Teil ist dasselbe in reichlichen Flocken am Boden des Gefäßes deponiert.

Bei dem Umstande, als das kulturelle Verhalten des Gasbacillus in Milch mit jenem des Granulobacillus identisch ist, schien mir auch die Bestimmung der in diesem Nährboden gebildeten Stoffwechselprodukte von Wichtigkeit.

Was das gasförmige Produkt anbelangt, ist dasselbe nach Hitschmann und Lindenthal aus 67,55 Proz. Wasserstoff, 30,62 Proz. Kohlensäure nebst geringen Mengen Ammoniak und Stickstoff zusammengesetzt.

Die in der Milch zurückbleibenden Produkte bestehen beim Granulo-

bacillus, wie schon früher erwähnt wurde, aus Buttersäure, Rechtsmilchsäure neben geringen Mengen von Alkoholen und Ameisensäure, vielleicht auch Essig- und Valeriansäure.

Die chemischen Produkte meines Gasbacillusstammes A in der Milch hatte Herr Stabsarzt Dr. Hladik die Freundlichkeit zu bestimmen, und lasse ich das Ergebnis der von ihm durchgeführten exakten Untersuchung im Wortlaute folgen:

Circa 1 l der Bakterienkultur, welcher jedoch keine Kreide zugesetzt worden war, wurde in derselben Weise, wie dies Schattenfroh und Grassberger getan haben, nach Zusatz von Schwefelsäure so lange der Destillation unterworfen, bis der Rückstand keinen merklichen Geruch nach flüchtigen Fettsäuren aufwies. Das Destillat wurde mit Baryumhydroxid neutralisiert, der Ueberschuß des letzteren durch Kohlensäure entfernt. Bei neuerlicher Destillation dieser Flüssigkeit ergaben sich drei Fraktionen von aromatischem Geruche, welche sämtlich in geringen Mengen ein positives Ergebnis der Liebenschen Jodoformreaktion lieferten.

Der Rückstand dieser letzteren Destillation, welcher die Baryumsalze der flüchtigen Säuren enthielt, wurde wieder mit Schwefelsäure angesäuert und destilliert. Das klare, stark nach Buttersäure riechende Destillat wurde mit gewaschenem Silberkarbonat in Ueberschuß versetzt, in einer Porzellanschale auf ein kleines Volumen eingedampft und sodann heiß durch ein kleines Filter abfiltriert. Aus dem wasserhellen Filtrat schied sich nach dem Erkalten eine geringe Menge eines gelblichen kristallinischen Pulvers ab, welches nach Trennung von der Mutterlauge und vollkommener Trocknung durch Veraschung auf seinen Silbergehalt geprüft wurde. Hierbei gaben 0,073 g derselben 0,0405 g Silber, was einem Silbergehalt von 55,5 Proz. entspricht. Das Pulver bestand demnach aus reinem n-Silberbutyrat, welches einen Silbergehalt von 55,38 Proz. besitzt.

Der Rückstand von der ersten Destillation, enthaltend die nicht flüchtigen Säuren, wurde entsprechend dem Vorgange von Schattenfroh und Grassberger nach Zusatz von Natronlauge auf ca. 400 ccm eingedampft, sodann mit Schwefelsäure angesäuert und durch eine Woche mit dem Schacherl'schen Apparate extrahiert. Der Extrakt lieferte nach Verdunstung des Aethers, Neutralisation mit Zinkkarbonat und Behandlung mit Wasser ein gelbliches Filtrat. Dieses letztere wurde im Vakuum über Schwefelsäure verdampft und hinterließ eine gelbe, schmierige, zum Teil kristallinische Masse, welche durch öfteres Aufschwemmen in absolutem Alkohol und darauffolgendes Abzentrifugieren der im Alkohol nicht löslichen Kristalle so weit gereinigt wurde, daß ein weißes Kristallpulver zurückblieb, welches sich bei schwacher Vergrößerung als aus glänzenden Prismen und Drusen bestehend erwies.

Von diesem Pulver wurden, nachdem dasselbe einen Tag im Exsikator über Schwefelsäure gestanden war, 0,4591 g in 12 ccm destillierten Wassers gelöst und hierauf das 20 cm lange Rohr des Polarisationsapparates von Lippich mit der Lösung angefüllt. Bei der Polarisation dieser Flüssigkeit, deren Konzentration somit 3,826 Proz. betrug, zeigte sich als Mittel mehrerer Ablesungen eine Linksdrehung von 0,53°. Wenn man annimmt, daß das spezifische Drehungsvermögen einer Lösung von paramilchsaurem Zink — $(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2\text{Zn} + 2\text{H}_2\text{O}$ — derselben Konzentration etwa 7,9—8,0° betragen dürfte, wie eine Inter-

polution aus den bei Landolt angeführten Werten ergibt, so berechnet sich der abzulesende Drehungswinkel derselben, α , aus der Formel:

$$7,9 = \frac{100 \alpha}{2 \times 3 \cdot 826}$$

$$\alpha = 0,6^\circ.$$

Zur quantitativen Bestimmung des Zinkgehaltes wurde die Lösung aus dem Polarisationsrohre ohne Verlust in einen Porzellantiegel gespült, mit dem übrigen Teile derselben vereinigt, dann nach Zusatz von etwas Salpetersäure auf dem Wasserbade eingedampft und schließlich verascht. Es blieben 0,1338 g Zinkoxyd zurück. Die 0,4591 g des Pulvers hatten also 0,1075 g Zink enthalten, das sind 23,42 Proz. Rechtsmilchsaures Zink in Kristallen mit 2 Mol. H_2O enthält 23,41 Proz. Zink. Das Pulver hatte demnach aus reinem rechtsmilchsaurem Zink bestanden.

Diese Untersuchung ergibt somit das Vorhandensein von Buttersäure, Rechtsmilchsäure und von Alkoholen in der Milchkultur des Gasbacillus, mithin Produkte, welche mit jenen des Granulobacillus im mobilis identisch sind.

Wenn also bis nun manche kulturelle Unterschiede wahrgenommen werden konnten, allerdings nicht von solcher Bedeutung, daß die Identität beider Arten völlig und sicher ausgeschlossen werden könnte, sehen wir, daß durch die chemische Untersuchung der Stoffwechselprodukte uns keinerlei differentielle Merkmale für beide Arten geliefert wurden.

Wie verhält es sich nun mit der Sporenbildung?

Wie schon früher hervorgehoben wurde, soll man den Granulobacillus durch Züchtung auf Stärkeagar zur glatten Versporung bringen können, welche bei Bruttemperatur schon 7—10 Stunden nach der Aussaat einsetzt.

Die Versporung des Gasbacillus konnte hingegen so gut wie von keinem der Autoren, die sich damit beschäftigten, willkürlich herbeigeführt werden. Der einzige, Albrecht, macht hierüber ganz positive Angaben, indem ihm bei 2 von seinen 4 Stämmen gelungen sein soll, Sporen auf Stärkeagar, und zwar einmal mit 10 Tropfen, das andere Mal mit 20 Tropfen Natronlauge ($\frac{1}{5}$ normale?) -Zusatz zu erzielen.

Fraenkel sah nur 1mal in einer 24-stündigen Agarkultur (mit Zusatz von ameisensaurem Natron) Sporenbildung, Hirschmann und Lindenthal schließen nur indirekt auf die Fähigkeit der Sporenbildung aus dem Umstande:

1) daß sie in den Ausstrichpräparaten aus dem Muskelsafte des Falles vom Januar 1900 außer grampositiven sporenlösen Stäbchen auch solche mit endständigen Sporen nachgewiesen haben und

2) daß es ihnen gelang, von der aus dem operierten Gelenke (radio-ulnaris) entfernten und vor der Uebertragung in Zuckeragar durch 10 Minuten in sterilem Wasser gekochten Celluloidplatte Kulturen von Gasbacillus zu erzielen.

v. Hibler sah nie Sporen und zählt daher den Gasbacillus zu den asporogenen Anaërobiern.

Auch mir ist es nie gelungen unter welcher Kulturanordnung immer Sporenbildung zu beobachten, daher auch auf Stärkeagar nicht, welcher nach der Angabe von Schattenfroh und Grassberger alkalisiert wurde.

Das Wachstum unserer Stämme von Gasbacillus auf Stärkekleisteragar (1 g Reisstärke wird aufgelöst in 1 l Wasser, sodann wird die

Lösung bis zur Umwandlung der Stärke in Kleister gekocht, Zusatz von $1\frac{1}{2}$ Proz. Agar, kochen, neutralisieren, filtrieren) war überhaupt ein sehr kümmerliches. Das Optimum des Alkalizusatzes schien bei 12 Tropfen $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge zu 10 ccm Agar zu liegen.

Unsere Versuche beschränkten sich jedoch nicht auf den Stärkekleisteragar.

Versucht wurde auch noch, allerdings ebenfalls vergeblich, Agar mit Zusatz von Ameisensäurem Natrium, Leberagar mit und ohne Zusatz von Stärke. Auf diesem Agar, welcher ohne anderweitige Zusätze analog dem Fleischpeptonagar aus Kalbsleber hergestellt wurde (kein Pepton!), wächst der Gasbacillus üppig unter mäßiger Gasbildung, welche wohl auf den Glykogengehalt des Nährbodens zurückzuführen ist, es scheint aber, daß mit der fortschreitenden Zahl der Generationen auch ihre Lebensfähigkeit abnimmt, so daß sich zum Schluß eine Passage durch Traubenzuckeragar zur Konservierung der Kultur als notwendig erweist.

Desgleichen zeigt der Gasbacillus auch ein üppiges Wachstum auf frischer Vogel-, Meerschweinchen- und Kaninchenleber (anaërob) und recht lebhaft Gasproduktion, aber keine Sporenbildung.

Da es mir gelang, in den Schnitten aus dem menschlichen Muskel sporenhaltige Bacillen nachzuweisen, versuchte ich auf doppelte Art, den Bacillus auf einem die Bestandteile des Muskels enthaltenden Nährboden, selbstverständlich bei anaërober Anordnung, zu kultivieren; zunächst wurden die Králschen Fleischscheiben versucht. Als auch hier der Erfolg ausblieb, wurde durch Filtration durch Pukal sterilisierter Fleischsaft zu 2-proz. Agar aa zugesetzt und in diesem Nährboden die Aussaat gemacht.

Das Wachstum war aber kaum nennenswert, Sporenbildung keine. Auch die Züchtung bei verschiedenen Temperaturen (25, 30, 35° C) und Wechsel derselben ergab kein positives Resultat.

Es schien demnach, als ob hier, wie auch Fraenkel annimmt, ein wichtiges differentielles Merkmal zwischen dem Gas- und Granulobacillus gelegen wäre.

Bei dem negativen Ausfalle der Versuche mit dem Gasbacillus schien es nunmehr von Wichtigkeit, auch den Granulobacillus in Bezug auf sein Verhalten denselben Nährböden gegenüber zu prüfen.

Zur Gewinnung desselben wurden drei Proben von Marktmilch verwendet. Jede, im Ausmaße von $1\frac{1}{2}$ l, in einer entsprechend adjustierten Flasche, wurde 15 Minuten im strömenden Dampfe von 100° C aufbewahrt.

Um eine Zertrümmerung der Gefäße oder wenigstens das Heraustreiben des Kautschukpfropfens hintanzuhalten, wurde der Abzugschlauch offen in ein Gefäß mit Wasser geleitet.

Sobald die Gerinnung der Milch eingetreten war, was in der Regel in 24—48 Stunden eintrat, wurde das Gefäß geöffnet und zunächst von der Milch ein Deckglaspräparat hergestellt, welches nach Gram gefärbt wurde. Sodann wurden Aufstriche auf Zuckeragarplatten mit mindestens zwei Verdünnungen hergestellt und in dem von mir eingangs beschriebenen Apparat aufbewahrt.

Es gelang auf diese Weise, in 2 von den 3 untersuchten Milchproben eine Stäbchenart in Reinkultur zu gewinnen, welche sich morphologisch und kulturell vollkommen analog dem Fraenkelschen Gasbacillus verhielt. Andererseits konnte wohl kaum daran gezweifelt

werden, daß wir es mit demselben Mikroorganismus zu tun haben, den Schattenfroh und Grassberger in 80 Proz. der untersuchten Milchproben gewinnen konnten.

Die von mir gezüchteten Stämme ließen untereinander keine Unterschiede erkennen. Sie verflüssigen die Gelatine etwas energischer als der Gasbacillusstamm A.

Auch diese 2 Granulostämme konnten trotz einer schier unendlichen Reihe von Versuchen in den verschiedensten Variationen nicht zur Sporulation in Kulturen gebracht werden.

Bei der Untersuchung älterer (4—7 Wochen alten) Kulturen sowohl von Gas- als auch Granulobacillus in Traubenzuckergelatine, fanden sich jedoch Gebilde, welche zum Teil als Degenerationsformen, zum Teil als rudimentäre, abortive (?) Sporenbildung aufgefaßt werden könnten.

Die ersteren präsentieren sich als kolbige Anschwellungen, welche stark an *Aktinomyces* erinnern, die letzteren sind kugelige Gebilde, welche teils dem Ende eines Stäbchens oder Fadens aufsitzen oder nahe dem Ende in dem Stäbchen gelagert sind, und in dieser Anordnung eine außerordentliche Ähnlichkeit mit Tetanusbacillen mit noch unreifen Sporen besitzen (Taf. I, Fig. 6 u. 7).

Diese Gebilde färben sich intensiv mit den üblichen Farblösungen, nehmen jedoch die Sporenfärbung (versucht wurde jene von Neisser und von Moeller wiederholt) nicht an. Ganz analog verhalten sich auch die weniger häufig anzutreffenden spindelartigen Formen.

Wenn nun auch der Beweis für die Sporennatur dieser Gebilde auf tinktoriellern Wege nicht erbracht werden konnte, dürften dieselben dennoch als eine rudimentäre abortive Sporenbildung angesehen werden, weil ihre Gestalt eine viel zu bestimmte ist, um lediglich mit der Degeneration des Bacillus in Zusammenhang gebracht zu werden. Auch widerspräche dieser Auffassung die gute Färbbarkeit dieser Gebilde.

Ein indirekter Beweis hätte allerdings durch eine wesentlich höhere Widerstandsfähigkeit solche Gebilde enthaltender Kulturen erbracht werden können.

Die dahin gerichteten Versuche mit frischen Agar- und mit alten Gelatinekulturen, welche die oben beschriebenen Gebilde enthielten, ergaben aber keinerlei Unterschied zwischen solchen Kulturen.

Die Erwärmung der Kulturen geschah im Wasserbade. Um diejenige Temperatur bestimmen zu können, welche die in der Achse des Agar- bzw. Gelatinecylinders gelegenen Teile der Kultur nach einem bestimmten Zeitraume annahmen, wurde gleichzeitig mit den Kulturen ein Agarröhrchen in das Wasserbad gesetzt, in welchem ein Maximalthermometer stichkulturartig im Agarcylinder eingefügt war. Die Lebensfähigkeit der Kulturen vor und nach der Erhitzung wurde durch Uebertragung mittels Stich auf Traubenzuckeragar sowie in Traubenzuckerbouillon unter Paraffin und mit Durchleitung von Wasserstoff geprüft.

Das Ergebnis dieser Versuche ist aus der folgenden Tabelle (p. 703) ersichtlich:

Ich kann nicht umhin, an dieser Stelle hervorzuheben, daß der Gasbacillus tatsächlich nur eine 3 Minuten lange Erwärmung im Wasserbade von 75° C verträgt, daß demnach eine längere Erwärmung zur Erlangung von Reinkulturen aus Krankheitsprodukten sich durchaus nicht empfiehlt, da sie nur dann zum Ziele führen kann, wenn die Bacillen tatsächlich sporuliert sind, was nicht immer der Fall sein muß.

Ich halte daher die von mir geübte Methode (Ausstriche auf Trauben-

Dauer der Ein- wirkung	Temperatur		Wachstum		Kon- trollen
	des Wassers	der Kultur	Agar- Kultur	Gelatine-	
3'	65° C	57°	+	+	+
5'		62°	⊖	⊖	+
10'		65°	⊖	⊖	+
3'	70° C	65°	+	+	+
5'		70°	⊖	⊖	+
10'		70°	⊖	⊖	+
3'	75° C	68°	+	⊖	+
5'		73°	⊖	⊖	+
10'		75°	⊖	⊖	+

zuckeragarplatten mit mehreren Verdünnungen) für die empfehlenswerteste.

Wenn nun schon das morphologische und kulturelle Verhalten auf die Identität dieser zwei Mikroorganismen hinwies, wurde dieselbe durch den angeschlossenen Tierversuch vollauf bestätigt.

Meerschweinchen XXII (370 g), 12. V. 2 Agarkulturen von *Granulobacillus* I emulgiert in 2 ccm physiologischer NaCl subkutan.

15. V. eine apfelgroße, schwappende Geschwulst am Bauche. Aspiration des Inhaltes; beim Einstechen entweicht Gas, die Geschwulst fällt zusammen. Die aspirierte Flüssigkeit ist trübe, rötlich. Im Deckglaspräparate finden sich mäßig reichlich Leukocyten, einzelne mit eingeschlossenen *Granulobacillen*. Außer reichlichen Stäbchen letzterer Art auch noch verschiedene andere Mikroorganismen. Kulturen auf Zuckeragarplatten anaërob aufbewahrt.

16. V. † in der Frühe. Wird auf 24 Stunden in den Brütöfen gelegt.

Sektionsbefund am 17. V. mit den früheren identisch. Geringe Schaumbildung makroskopisch nachweisbar.

In Ausstrichen aus der Leber massenhafte, zum Teil sporulierte *Granulobacillen*.

In den Kulturen aus dem aspirierten Inhalte einzelne Streptokokken nebst massenhaften Granulokolonien.

Meerschweinchen XXIII (404 g), 19. V. 2 Agarkulturen von *Granulobacillus* I subkutan.

21. V. am Bauche eine apfelgroße, gashaltige Blase. Aspiration des Inhaltes. Mikroskopischer Befund: Zahlreiche *Granulobacillen* nebst Kokken und gramnegativen Stäbchen.

22. V. † in der Frühe; wird auf 24 Stunden in den Brütöfen gelegt.

23. V. Sektionsbefund wie beim vorhergehenden. Makroskopisch keine Schaumorgane.

In den Leberausstrichen reichliche *Granulobacillen*, davon einzelne sporuliert.

In den Kulturen aus Blaseninhalt und Leber reichliche Granulokolonien.

Meerschweinchen XXIV (348 g), 25. V. 2 Agarkulturen von *Granulobacillus* II subkutan.

26. V. eine strangförmige Infiltration an der Injektionsstelle.

29. V. an der Injektionsstelle Haarausfall nebst einem ca. teller- großen Geschwür, in der Umgebung derselben eine breite, bis über den Proc. xiphoideus reichende Infiltration.

10. VI. geheilt.

Meerschweinchen XXVI (385 g), 26. V. 2 Agarkulturen von Granulobacillus I intraperitoneal.

27. V. tot.

Sektionsbefund: An der Injektionsstelle ein subkutanes, hinauf bis zum Halse, andererseits bis in die Schenkelbeuge reichendes, sulziges Oedem.

In der Bauchhöhle eine reichliche Menge blutig seröser, mit kleinen Eiterflocken untermengter Flüssigkeit.

Das Peritoneum gerötet, stellenweise mit feinen Eiterflocken bedeckt. Milz nicht vergrößert, Lunge und Herz normal.

Mikroskopisch fanden sich im Oedem und Herzblute keine, im peritonitischen Exsudate massenhafte Granulobacillen nebst reichlichen Leukocyten. Reichliche Phagocytose.

Kulturen aus Oedem und Blut negativ. Aus dem peritonitischen Exsudate Granulobacillus in Reinkultur.

Meerschweinchen XXVIII (345 g), 29. V. 2 Agarkulturen von Granulobacillus II intraperitoneal.

30. V. † in der Frühe.

Obduktionsbefund identisch mit jenem des Meerschweinchens XXVII (Gasbacillus Pge. 19).

Meerschweinchen XXX (282 g), 3. VI. $\frac{1}{2}$ Agarkultur intraperitoneal. Keine Reaktion.

Wie aus dieser Serie von Tierversuchen hervorgeht, haben Injektionen mit größeren Mengen von Granulobacillus dieselben typischen Erscheinungen hervorgerufen, wie der Gasbacillus. Es kann daher auch die Pathogenität der Stämme durchaus nicht als ein Unterscheidungsmerkmal herangezogen und der Gasbacillus nicht als eine „pathogene Varietät des überall verbreiteten Granulobacillus“ hingestellt werden, sondern es muß umgekehrt gesagt sein, daß die von Schattenfroh und Grassberger zuerst gewonnenen Stämme Gasbacillusstämme waren, welche ihre Virulenz vielleicht infolge allzustarker Erhitzung des Ausgangsmaterials eingebüßt haben mochten.

Wenn nun auch nach dem Ergebnisse all dieser Untersuchungen es keinem Zweifel unterliegen konnte, daß die von Schattenfroh und Grassberger behauptete Identität beider Arten zu Recht besteht, so blieb es denn doch noch erwünscht, auch noch jenes Mittel zu versuchen, welches in der neuesten Zeit vielfach mit Erfolg zur Trennung verwandter Arten angewandt wird und welches uns in dem Agglutinationsphänomen geboten ist.

Zu diesem Behufe wurden zwei Kaninchen in folgender Weise behandelt:

Kaninchen I (grauweiß, 4327 g), 1. V. 10 ccm einer 24-stündigen Traubenzuckerbouillonkultur von Gasbacillus A, durch 30 Minuten auf 58° C erwärmt, subkutan.

6. V. 1 Agarkultur in NaCl emulgiert, lebend subkutan. Gewicht 3850 g.

12. V. Agarkulturen lebend subkutan. Gewicht 3620 g.

15. V. Blutentnahme. Mikroskopische Agglutinationsprobe im Verhältnisse von 1:5 bis 1:10 mit Gas- und Granulobacillus negativ, selbst nach mehrstündigem Aufenthalte im Brütöfen.

18. V. Gewicht 3255 g.

19. V. Exitus an Kaninchenseptikämie.

Kaninchen II (braun, 2060 g), 18. V. 1 Agarkultur (A), lebend sukutan.

25. V.	Gewicht	1975 g,	2	Agarkulturen	} subkutan.
3. VI.	"	1995 "	2	"	
12. VI.	"	2158 "	2	"	
23. VI.	"	2447 "	3	" lebend	
28. VI.	Blutentnahme	aus der Ohrvene.			

Mikroskopische Agglutinationsprobe mit Gasbacillus A und Granulobacillus I und II im Verhältnisse von 1 : 10 bis 1 : 1 selbst nach mehrstündigem Aufenthalte im Brütoven negativ.

Im Kaninchenblute wurden daher keine Agglutinine für den Gasbacillus gebildet.

Wenn nun auch die Agglutinine nach den bisherigen Erfahrungen keine komplexen Körper sind und sich demnach nicht aus Immunkörper und Komplement zusammensetzen, wurde trotz alledem auch noch der Versuch gemacht, ob nicht dennoch ein Zusatz von normalem Meer-schweinchenserum, welches, wie ein vorausgeschickter Versuch zeigte, die Gasbacillen nicht agglutiniert, irgend eine agglutinauflösende Wirkung äußere. Aber auch dieser Versuch fiel vollkommen negativ aus.

Ich muß mich vorläufig darauf beschränken, dieses negative Resultat mitzuteilen, da eine Fortsetzung dieser Versuche von mir wohl beabsichtigt ist, das Abwarten aber des vielleicht abermals negativen Resultates die Veröffentlichung dieser Arbeit unnützerweise verzögert hätte.

Die ersten zwei Fragen können demnach dahin beantwortet werden, daß

1) der Granulobacillus immobilis mit dem Bacillus aërogenes capsulatus seu Bacillus phlegmones emphysematosa identisch sei und

2) daß, wenn auch diese Mikrobenart unter uns vorläufig noch unbekanntem Umständen im Tierkörper Sporen bildet, wir noch keine Methode der Züchtung kennen, um dieselbe konstant und prompt zur Sporenbildung zu bringen.

Die dritte von uns aufgestellte Frage nach der Wirkungsweise des Gasbacillus im Tier- bzw. im menschlichen Körper kann wohl nur durch sorgfältige pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung der Krankheitsprodukte und Organschnitte beantwortet werden.

Außer der Herstellung zahlreicher teils nach Pfeiffer, teils nach Gram gefärbter Deckglaspräparate wurden, wie schon erwähnt, Gewebstücke und Organe vom Menschen und Versuchstieren in 10-proz. Formalinlösung fixiert, in aufsteigendem Alkohol gehärtet und in Celloidin geschnitten. Die Färbung der Schnitte geschah teils nach Gram (Verfärbung mit Lithionkarmin), teils nach van Gieson und mit Hämalaun-Eosin.

A. Gasgangrän des Menschen.

1) Hautmuskelschnitte.

Die Kernfärbung in der Cutis schwach; spärliche zerstreute, kleinzellige Infiltrate.

Das subkutane Zellgewebe von großen Gasblasen durchsetzt; in den Bindegewebsbalken nahezu ausnahmslos Blutextravasate, zahlreiche grampositive Bacillen enthaltend. Die Kernfärbung ungleich gut erhalten.

In dem an die Muskelschicht angrenzenden Bindegewebe (Fascie) zahlreiche Extravasate.

In den Muskelfasern ist keinerlei Kernfärbung nachweisbar. Einzelne zeigen noch die Längsstreifung, die Mehrzahl besitzt aber auch diese nicht mehr. Ihr Aussehen ist zumeist homogen, sie sehen wie gequollen aus, ein kleiner Teil zeigt einen Zerfall einmal in Primitivfasern, das andere Mal in quere, unregelmäßige Scheiben. Keine kleinzelligen Infiltrate.

An den Blutgefäßen keine entzündlichen Erscheinungen.

Die reichlichsten Bakterienanhäufungen finden sich in den die größeren Muskelbündel voneinander trennenden Bindegewebszügen. Sie bestehen nahezu ausschließlich aus ziemlich plumpen, grampositiven Stäbchen, von denen ein Teil sporuliert ist.

2) Leber.

Die Zeichnung der Acini verwischt, das Gewebe von zahlreichen kleinen und großen Gasblasen durchsetzt; die Kernfärbung fast nirgends erhalten.

Kleinzellige Infiltrate nirgends nachweisbar. Zahlreiche Herde von grampositiven Bacillen, in deren Mitte oft eine kleine Gasblase sitzt.

Die großen Hohlräume sind in der Regel von dichten Bakterienmassen eingesäumt.

3) Niere.

Kernfärbung nur stellenweise erhalten. Das Gewebe von kleineren und größeren Hohlräumen, welche von grampositiven Bakterienmassen eingesäumt sind, durchsetzt.

Keine kleinzelligen Infiltrate.

Sowohl in der Leber als auch in der Niere sind einzelne Blutgefäße mit grampositiven Stäbchen erfüllt.

B. Multipler Leberabsceß, Schaumleber.

Kerne der Leberzellen nicht, die der Eiterzellen gut tingibel. Das Leberparenchym stellenweise in eine granulirte Masse, die keine Färbung annimmt, zerfallen. Das Gewebe von großen Hohlräumen, welche von grampositiven Stäbchen eingesäumt sind, durchsetzt.

Viele Leberzellen sind von lichtbraunem Pigment erfüllt.

In den Eiterherden zahlreiche Haufen von grampositiven Kokken, welchen sich an der Peripherie der Herde massenhafte grampositive Stäbchen anschließen.

C. Der Gasbrand der Versuchstiere.

Da der Befund bei den einzelnen Tieren in seiner verschiedenen Eigenart wiederkehrt, kann man von der Darstellung des ersteren bei sämtlichen Versuchsindividuen absehen und nur jene anführen, welche gewissermaßen einen Typus repräsentieren.

Meerschweinchen XI, injiziert 29. XII., † 30. XII.; 24 Stunden im Brütöfen.

Bauchmuskelschnitte: Keine Kernfärbung. Die meisten ohne Streifung, bei einzelnen die Längsstreifung noch erhalten. Die der Gasblase am nächsten gelegenen oberflächlichen Muskelfasern in eine nekrotische, von spärlichen Leukocyten durchsetzte Masse umgewandelt. Der Degenerationsprozeß nimmt nach der Tiefe zu an Intensität ab.

In den die Muskelbündel trennenden Bindegewebszügen massenhafte grampositive Bacillen, von hier aus zwischen die Muskelfasern vordringend.

Leber.

Das Gewebe von kleineren und größeren Hohlräumen durchsetzt, die Struktur stellenweise verwischt. Die Kernfärbung regellos verteilt. Auch in der Glissonschen Kapsel keine Anhäufung von Rundzellen. Viele Leberzellen von lichtbraunem Pigment erfüllt. Das ganze Gewebe von Gasbacillen durchsetzt, auch die Gefäße bacillenhaltig, die Hohlräume von denselben eingesäumt.

Niere.

Die Gasbildung weniger stark als in der Leber. Die Kernfärbung zum größten Teil gut erhalten; keine Rundzellenherde. Massenhafte Gasbacillen teils im interstitiellen Gewebe, teils in den Blutgefäßen.

Lunge.

Weist zahlreiche kleinere und größere Hämorrhagieen auf. Stellenweise, namentlich in der Umgebung der Gefäße, kleinere, kleinzellige Infiltrate, in deren Nähe größere Haufen grampositiver Stäbchen vorhanden sind. Die Kernfärbung sehr gut erhalten.

Meerschweinchen XIII, injiziert 29. XII, † 3. I. Sektion unmittelbar post mortem.

Bauchmuskelschnitte: Befund wie bei XI, kleinzellige Infiltrate etwas reichlicher.

Meerschweinchen XIV, injiziert 12. I., getötet mit Chloroform 13. I. und unmittelbar darauf obduziert.

Bauchmuskelschnitte aus der Gegend der Gasblase.

An derselben sind folgende Schichten zu unterscheiden:

- 1) Eine oberflächliche Schicht von grampositiven Stäbchen;
- 2) eine Schicht von Eiterzellen mit schwach färbbarem Kern, darunter massenhafte grampositive Bacillen;
- 3) kernlose Muskelschicht mit zahlreichen, zwischen den Muskelfasern gelagerten Eiterzellenherden; massenhafte grampositive Bacillen;
- 4) Schicht von Eiterzellen mit schwach färbbarem Kerne mit eingelagerten kleinen und großen Haufen von grampositiven Bacillen;
- 5) kernlose Muskelschicht mit massenhaften Eiterzellen mit gut färbbarem Kerne von Zügen grampositiver Bacillen durchwuchert;
- 6) breite Eiterschicht mit gut färbbarem Kerne;
- 7) Muskelschicht ohne wesentliche Degenerationserscheinungen;
- 8) Fascie, Peritoneum.

Leber, Milz und Niere zeigen keine nennenswerte Alteration und keine Bakterienwucherung.

Meerschweinchen XV, injiziert 6. II., † 7. II. Kadaver 18 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Hautmuskelschnitte: Bacillenzüge hauptsächlich im subkutanen und intramuskulären Zellgewebe, stellenweise von da aus zwischen die Muskelfasern vordringend; wo dies der Fall, Verlust der Kernfärbung und Querstreifung bis zur Vakuolisierung oder Zerfaserung der Muskelfasern sowie Zerfall in Querscheiben. In Begleitung der Bakterien wenig ausgedehnte, kleinzellige Infiltrate.

Meerschweinchen XXII: injiziert 12. V., † 16. V. Kadaver durch 24 Stunden im Brütoven gelegen. Makroskopisch geringe Schaumorgane.

Muskelschnitte: Reichliche kleinzellige Infiltration im Zwischenmuskulergewebe, entsprechend den darin vorhandenen Zügen von grampositiven Bacillen. Degeneration der Muskelfasern wie früher.

Leberschnitte: Struktur und Kernfärbung im ganzen gut erhalten. Größere, mit einem Bakterienhaufen umsehene Hohlräume spärlich. Das ganze Parenchym von grampositiven Stäbchen durchwuchert, welche stellenweise größere Haufen bilden. In der Nähe solcher Stellen erscheint die Kernfärbung weniger deutlich, bisweilen fehlt sie ganz.

Meerschweinchen XXIII: injiziert 19. V., † 22. V. Kadaver durch 24 Stunden im Brütöfen belassen.

Bauchmuskelschnitte: Das subkutane und intramuskuläre Zellgewebe in eiterige Streifen umgewandelt. An den am hochgradigsten ergriffenen Stellen umfassen die kleinzelligen Infiltrate die einzelnen Muskelfasern, welche alle Grade der hier beobachteten Degeneration aufweisen. In den eiterigen Massen große Haufen grampositiver Bacillen, welche in großen Zügen auch zwischen die Muskelfasern vordringen.

Leber.

Kernfärbung, mit Ausnahme der Randpartien, gut erhalten. Größere Hohlräume nicht vorhanden. Die Bacillen, zum Teil sporuliert, liegen zumeist in größeren Haufen in den Gefäßen oder auch in Streifen zwischen den Leberzellen.

Niere.

Geringe Schaumbildung. Kernfärbung bis auf die äußerste periphere Zone, in der die Kernfärbung fehlt, gut erhalten. Die Bacillen, von denen sehr viele ausgebildete, teils mittel-, teils endständige Sporen tragen, sind zumeist in den Blutgefäßen, Kapillaren, teils frei in dem interstitiellen Gewebe gelagert.

Milz.

Kernfärbung überall deutlich. Bacillen im Gewebe relativ spärlich. Reichlicher in den Blutgefäßen, namentlich aber in dem im Hilus befindlichen lockeren Zellgewebe, ohne Sporen.

Kaninchen 1, injiziert 7. XII., † 9. XII., Obduktion wenige Stunden post mortem. Keine nennenswerten Veränderungen an den inneren Organen (Leber, Milz, Niere, Lungen), Bakterien in denselben keine nachweisbar.

Wenn wir auf diese Befunde einen Rückblick werfen, so müssen wir zugeben, daß das pathologisch-anatomische Bild in loco morbi ein sehr wechselndes ist insofern, als einmal die Erscheinungen der Nekrose, das andere Mal jene der Entzündung prävalieren und schließlich beide diese Veränderungen in gleichem Maße nebeneinander bestehen können, auch dort, wo keine anderen Erreger als die injizierten Gasbacillen nachgewiesen werden konnten.

Dieser Umstand weist demnach darauf hin, daß dem Gasbacillus tatsächlich entzündungserregende Eigenschaften innewohnen, was außer durch die Beobachtungen Fraenkels sowie die Befunde Hitschmann und Lindenthals bei Meningitis auch durch das Ergebnis der in dieser Arbeit angeführten Tierversuche, insbesondere jener mittels intraperitonealer Injektion, erhärtet wird.

Daß schließlich die Verwertung der Meerschweinchenversuche für die Beurteilung der Wirksamkeit des Gasbacillus im menschlichen Körper zulässig ist, das ergibt sich sowohl aus der Analogie des künstlich erzeugten und natürlichen Prozesses, aus den allgemein anerkannten experimentellen und bakteriologischen Prinzipien, zu deren Verläugnung gerade in diesem Falle kein Grund vorliegt, und endlich aus dem von Fraenkel zuletzt mitgeteilten Falle, in welchem die Entzündungserscheinungen an der Erkrankungsstelle vorgewogen haben,

und welcher nur beweist, daß auch beim Menschen das intime Bild der Gasphegmone in den einzelnen Fällen wesentlich variieren könne.

Ich kann mich daher weder der einen noch der anderen extremen Richtung anschließen und glaube, daß auch hier die Wahrheit in der Mitte gelegen sein dürfte und daß man derselben am nächsten kommt, wenn man annimmt, daß die Wirkung des Gasbacillus eine Kombination zwischen Entzündungserregung und Nekrosierung darstellt, in welcher das Vorwiegen der einen oder anderen Tätigkeit den Charakter des pathologischen Prozesses bestimmt.

Der Umstand nun, daß in diesen Fällen bei frühzeitiger Sektion keine wesentlichen oder nur solche Veränderungen der inneren Organe nachgewiesen werden konnten, welche auch bei anderen Infektionskrankheiten vorkommen (parenchymatöse Degeneration) und auf die Wirkung von Toxinen zurückgeführt, ließ von Haus aus die Idee aufkommen, daß auch hier der toxische Ausgang auf bakterielle Gifte zurückgeführt werden müßte.

Die Anwesenheit eines solchen Toxins versuchten zunächst Fraenkel sowie Hirschmann und Lindenthal auf die Weise zu eruieren, daß sie durch Hitze oder Chloroform und Formalin abgetötete Kulturen Tieren subkutan und intraperitoneal injizierten.

Sie haben indessen niemals irgend eine Reaktion erzielen können.

Ganz dasselbe negative Resultat haben auch meine Versuche mit Kulturfiltraten ergeben, wo die letzteren selbst in einem Quantum von 10 ccm, subkutan injiziert, keinerlei Störungen bei den Versuchstieren hervorriefen. Die sanguinolente Beschaffenheit des Exsudates ließ aber doch daran denken, daß es sich in erster Richtung um ein hämolytisches Gift handeln könnte.

Zu diesem Behufe wurden nach dem Vorgange von Neisser und Wechsberg zunächst Versuche mit Kulturfiltraten in folgender Weise vorgenommen:

1) Steigende Mengen des Filtrats wurden in kleinen Reagenzröhrchen mit NaCl (phys.) auf 2 ccm aufgefüllt, mit je 1 Tropfen nicht defibrinierten Menschenblutes versetzt und nebst zwei Kontrollröhrchen mit NaCl und Traubenzuckerbouillon in den Brütöfen gesetzt.

Als Toxin wurde das Filtrat (Pukal) einer 8-tägigen Zuckerbouillonkultur von Pge. Meerschweinchen XI verwendet.

Toxinmenge	Effekt nach 2 Stunden im Brütöfen
1,0 ccm	+ total
0,75 "	+ "
0,5 "	+ nahezu total
0,25 "	+ unvollständig
0,1 "	+ Spuren
0,05 "	⊖

2) Versuch mit demselben Toxin und Kaninchenblut.

a) Nicht defibriniert.		b) Defibriniert.	
Toxinmenge	Effekt	Toxinmenge	Effekt
1,0 ccm	+ total	0,4 ccm	+ total
0,75 "	+ "	0,3 "	+ "
0,5 "	+ "	0,2 "	+ "
0,25 "	+ unvollständig	0,1 "	+ "
0,1 "	+ "	0,09 "	+ unvollständig
0,05 "	+ Spuren	0,08 "	+ "
		0,07 "	+ Spuren
		0,06 "	⊖
		0,05 "	⊖
		0,04 "	⊖
		0,02 "	⊖

3) Toxin aus Pge. Meerschweinchen 17 mit defibriniertem Menschen- und Schweineblut.

Toxinmenge	Effekt	
	Menschenblut	Schweineblut
1,0 ccm	+ unvollständig	+ unvollständig
0,5 "	+ Spuren	+ Spuren
0,4 "	+ "	+ "
0,3 "	+ "	⊖ "
0,2 "	+ "	⊖
0,1 "	⊖	⊖
0,09 "	⊖	⊖
0,08 "	⊖	⊖
0,07 "	⊖	⊖
0,06 "	⊖	⊖

4) Derselbe Versuch mit dem im Versuche 1 verwendeten, durch 3½ Monate aufbewahrten Toxin.

Toxinmenge	Effekt	
	Menschenblut	Schweineblut
1,0 ccm	+ unvollständig	+ unvollständig
0,5 "	+ "	+ Spur
0,25 "	+ Spur "	⊖
0,1 "	⊖	⊖
0,05 "	⊖	⊖

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß in den Kulturen des Gasbacillus tatsächlich ein Hämolyisin in wechselnden Mengen enthalten ist und daß dasselbe durch längeres Aufbewahren allmählich zerstört wird.

Durch einen weiteren Versuch wurde nun auch die Gegenwart des Leukozidin nachgewiesen.

Genau nach dem Vorgange der vorgenannten Autoren wurde das vom Kaninchen gewonnene und mit 1-proz. oxalsaurem Natrium versetzte Aleuronatexsudat zunächst mittels Methylenblaulösung austitriert, d. h. der Limes reducens bestimmt. Derselbe stellte sich auf 0,25 ccm.

Darauf wurde eine Reihe von Röhren zunächst mit je 0,5 ccm Exsudat, sodann mit steigenden Mengen von Toxin versetzt, diese Flüssigkeitsmengen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt und das Ganze auf 2½ Stunden in den Brütöfen gesetzt. Hierauf Zusatz von Methylenblau, Übersichtung mit sterilem Paraffin und neuerlicher Aufenthalt von 2 Stunden im Brütöfen.

Das Resultat dieses Versuches war das folgende:

Toxinmenge	Reduktion	Exsudatmenge
1,0 ccm	⊖	0,5 ccm
0,75 "	⊖	0,5 "
0,50 "	schwach	0,5 "
0,25 "	deutlich	0,5 "
0,10 "	"	0,5 "
0,075 "	"	0,5 "
0,050 "	"	0,5 "
0,025 "	"	0,5 "
0,010 "	"	0,5 "
0,005 "	"	0,5 "

Wir ersehen daraus, daß in dem Kulturfiltrate des Gasbacillus nur Gifte nachgewiesen werden konnten, welche zweifellos die morphologischen Elemente des Blutes angreifen, welche aber in den Kulturen in relativ geringer Menge gebildet werden.

Ob das Vorhandensein dieser hämolytischen und bakteriziden Toxine einen Einfluß auf die Beschaffenheit und den Charakter der Krankheits-

produkte bezw. deren Zellreichtum ausübt, muß noch dahingestellt bleiben.

Wir können uns nunmehr der Beantwortung der letzten Frage zuwenden, welche sich auf den Zeitpunkt bezieht, zu welchem das Eindringen der Bacillen in die inneren Organe stattfinden dürfte.

Die Beantwortung dieser Frage bietet wenig Schwierigkeiten. Es ist mir niemals gelungen, in den inneren Organen auch nur vereinzelt Stäbchen nachzuweisen und in einwandfreier Weise zu kultivieren, wenn das Tier unmittelbar post mortem obduziert wurde. Daß die Stäbchen auch dann in den Gefäßen erscheinen können, wenn sie erst im Kadaver in die inneren Organe gelangen, davon habe ich mich durch einen einfachen Versuch überzeugt. Taubenleber wurde steril entnommen, in Alkohol getaucht, abgebrannt, mit einem in Sodalösung ausgekochten Messer in zwei Hälften zerschnitten und sodann eine mit der betreffenden Reinkultur beschickte Nadel von der Schnittfläche in das Parenchym eingeführt. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Brütöfen unter anaërober Anordnung boten die mit dem als Gasbacillus A und Granulo II bezeichneten Stämmen geimpften Leberhälften das folgende Aussehen:

Die Mitte des Leberstückchens von mehreren großen Hohlräumen eingenommen, welche durch schmale Septa voneinander getrennt sind. Bei der mikroskopischen Durchsicht der daraus hergestellten und nach van Gieson und Gram gefärbten Präparate ließ sich zunächst keine Kernfärbung nachweisen. Diese war aber auch nicht in der zur Kontrolle unter denselben Bedingungen aufbewahrten zweiten, nicht geimpften Leberhälfte vorhanden, mit Ausnahme einer schmalen, peripher gelegenen Zone, welche die Erhaltung der Kernfärbung der offenbar durch das Abbrennen mit Alkohol bemerkten Fixierung zu verdanken hatte. Es lag demnach ein einfaches Absterben vor ohne Hinzutritt irgend einer abtötenden bakteriellen Tätigkeit. Große Haufen von Bacillen in einzelnen Blutgefäßen, selbst fern von der Impfstelle.

Daraus ergibt sich, daß selbst ein postmortales Eindringen der Gasbacillen in die inneren Organe diejenigen Veränderungen derselben hervorrufen kann, welche für die Schaumorgane charakteristisch sind.

Es fragt sich nun, ob eine derartige allgemeine Verbreitung der Stäbchen im Körper durch ein einfaches postmortales Durchwachsen aus dem Erkrankungsherde möglich ist. Diese Möglichkeit muß mit Rücksicht auf die in der Regel vorhandene große Ausdehnung des Krankheitsherdes, welcher beim Meerschweinchen nicht selten nicht nur die ganze untere, sondern auch die seitlichen Flächen des Körpers einnimmt und auf das üppige und schnelle Wachstum des Gasbacillus sowie sein Gärvermögen, welches ihm durch die Zerstörung der Gewebe in seinem Vordringen nur unterstützen dürfte, entschieden zugegeben werden. Wenn es also auch als möglich, ja höchstwahrscheinlich hingestellt werden muß, daß bei den ausgedehnten Zerstörungen namentlich kleinerer Gefäße im Gebiete des Krankheitsherdes zahlreiche Stäbchen in die Blutbahn und auf diesem Wege in die inneren Organe gelangen, woselbst sie, durch die bakterizide Kraft des Blutes gezwungen, so lange untätig verharren, als die letztere durch den Absterbeprozess nicht vernichtet wird, so muß andererseits betont werden, daß es einer derartigen prä-mortalen, agonalen Einwanderung zur Erzeugung der Schaumorgane nicht unbedingt bedarf.

Wenn wir also die Resultate der vorliegenden Arbeit nochmals überblicken, so können wir dieselben in folgende Sätze zusammenfassen:

1) Der *Bacillus aërogenes capsulatus*, *Bacillus phlegmones emphysematosae* und der *Granulobacillus butyricus* sind identische Arten und wären demnach mit Rücksicht auf das Prioritätsrecht alle diese Bezeichnungen durch die zuerst angeführte Benennung zu substituieren.

2) Der Gasbacillus kann auch ohne Hinzutreten anderer pyogener Mikroorganismen entzündlich-eiterige Prozesse hervorrufen.

3) Die Wirkung, welche er auf die Gewebe ausübt, ist eine kombinierte, d. h.:

a) eine entzündungserregende und

b) eine vergärend-nekrotisierende und hängt das Bild des pathologischen Prozesses lediglich von dem Ueberwiegen der einen oder anderen Tätigkeit ab, was von der individuellen Reaktion des befallenen Organismus abhängen dürfte.

3) Die Ansiedelung der Gasbacillen findet mit Vorliebe im lockeren Bindegewebe und in glykogenhaltigen Organen bezw. in deren Nachbarschaft statt (Leber, Muskel). Die erstere wird durch das geringe mechanische Hindernis, die letztere durch das Vorhandensein des für das Fortkommen des Mikroorganismus notwendigen Kohlehydrats bedingt.

4) Für eine Vergärung der Eiweißkörper ohne Hinzutritt von Kohlehydraten sind auch aus unseren Versuchen keine Anhaltspunkte zu entnehmen.

5) Der Prozeß ist ein lokaler, die Vermehrung der Bacillen in den inneren Organen eine postmortale.

6) Energische Toxine bildet der Gasbacillus in den Kulturen nicht oder nicht in größerer Menge. Das darin nachgewiesene Gift hat hämolytische und leukozide Eigenschaften. Es ist aber möglich und es weist der Verlauf des Prozesses darauf hin, daß im lebenden tierischen Körper eine wesentlich stärkere Giftbildung stattfindet als in den künstlichen Nährsubstraten.

7) Bei der Immunisierung der Kaninchen mit dem Gasbacillus werden im Blute dieser Tiere keine Agglutinine gebildet.

Wien, im August 1903.

Literatur.

- Albrecht, Ueber Infektion mit gasbildenden Bakterien. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXVII. 1902. p. 514.)
 Babes, Sur la pathogénie des gangrènes pulmonaires. (Sem. méd. 1894. p. 338.)
 Bernhard, Ein Fall von Pneumathämie und Schaumorganen. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 5.)
 Ernst, Ueber einen gasbildenden Anaëroben im menschlichen Körper und seine Beziehungen zur Schaumleber. (Virch. Arch. Bd. CXXXIII. p. 303.)
 Fraenkel, E., Ueber einen Fall von Gastritis acuta emphysematosa wahrscheinlich mykotischen Ursprunges. (Virch. Arch. Bd. CXVIII.)
 — —, Ueber Gasphlegmonen. — Monographie. Hamburg und Leipzig, 1893.
 — —, Ueber die Aetiologie der Gasphlegmonen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. 1893.)
 — —, Ueber den Erreger der Gasphlegmone. (Münch. med. Wochenschr. 1899. p. 1369.)
 — —, Ueber Gasphlegmonen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XL. 1902.)
 Goebel, Ueber den Bacillus der Schaumorgane. (Jahrb. d. Hamburger Staatskrankenhauses. Bd. IV. p. 402.)
 von Hübner, Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen der Tiere und des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. p. 513 ff.)
 Hirschmann u. Lindenthal, Ueber die Gangrène foudroyante. — Monographie. Wien 1889.

- Hitschmann u. Lindenthal, Ein weiterer Beitrag zur Pathologie und Aetiologie der Gangrène foudroyante. (Wien. klin. Wochenschr. 1900. No. 46.)
- Legros, Recherches bactériologiques sur les gangrènes gazeuses aiguës. [Thèse.] Paris 1902.
- —, Recherches histologiques sur les gangrènes gazeuses aiguës. (Arch. de méd. exp. et d'anat. path. T. XV. 1903. No. 1. p. 1.)
- Levy, Ueber einen Fall von Gasabsceß. (Dtsche Zeitschr. f. Chir. Bd. XXXII. 1891.)
- —, Ueber den Pneumothorax ohne Perforation. (Arch. f. Path. u. Pharm. Bd. XXX. 1895. p. 335.)
- Lowe, W. J. and Carry, C. A., Infection of gunshot wound of the leg with the Bacillus aërogenes capsulatus — amputation, recovery. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. 1901. p. 264.)
- Norris, A rapport on six cases in which the Bacillus capsulatus was isolated. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 434.)
- Passow, Ein Fall von Gasphegmone im rechten Schultergelenk. (Charité-Annalen. Bd. XX. p. 275.)
- Rath, Zur Bakteriologie der Gangrän. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. p. 706.)
- Reinbach, Zur Aetiologie der Lungengangrän. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1894. p. 649.)
- Rodella, Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 135.)
- Sandler, Ueber Gasgangrän und Schaumorgane. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1902. No. 12. p. 471.)
- —, Ueber Gasgangrän und Schaumorgane. Zusammenfassendes Referat. (Ibidem. p. 718.)
- Schattenfroh u. Grassberger, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. p. 54.)
- —, Ueber Buttersäurebacillen und ihre Beziehungen zu der Gasphegmone. (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 30 u. 31.)
- —, Ueber Buttersäuregärung. III. Abhandl. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. Heft 1.)
- Silberschmidt, Bakteriologisches über einige Fälle von Gangrène foudroyante, von Phlegmone und von Tetanus beim Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. 1902. Heft 3.)
- Spitta, Mitteilung in der pathol. Gesellschaft in London am 21. Jan. 1902. (Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXI. p. 179.)
- Stolz, Die Gasphegmone des Menschen. (Dtsche Zeitschr. f. Chir. Bd. XXXIII. 1902. p. 72.)
- Uffelheimer, Ein neuer gaserzeugender Bacillus. (Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol. Bd. XXXI. 1902.)
- Wallgren, Ueber anaërobe Bakterien und ihr Vorkommen bei fötiden Eiterungen. (Centralbl. f. Gynäk. 1902. No. 45. p. 1095.)
- Welch, Morbid conditions caused by Bacillus aërogenes capsulatus. (Johns Hopkins Hospital Bulletin. Vol. XI. No. 114.)
- —, Kongreß zu Baltimore. 1900.
- Welch and Nuttall, A cas producing bacillus capable of rapid development in the blood vessels aft death. (Johns Hopkins Hospital Bulletin. Vol. III. 1892.)
- Welch and Flexner, Observations concerning the Bacillus aërogenes capsulatus. (Journ. of exper. Med. Vol. I. 1896. p. 5.)
- Westenhoeffer, Ueber Schaumorgane und Gangrène foudroyante. (Virch. Arch. Bd. CLXVIII. 1902. p. 185.)
- —, Weitere Beiträge zur Frage der Schaumorgane und der Gangrène foudroyante. Kadaveröse Fettembolie der Lungenkapillaren. (Virch Arch. Bd. CLXX. 1902. p. 517.)
- Wicklein, Drei Fälle von Gasgangrän. (Virch. Arch. Bd. CXXV. 1891. p. 75.)
- Williams, The Bacillus aërogenes capsulatus in a case of suppurativ pyelitis. (Johns Hopkins Hospital Bulletin. 1896. No. 61. p. 66.)
- Zur Zeit des Abschlusses dieser Arbeit noch nicht vollständig erschienen:
- Ghon u. Sachs, Zur Aetiologie des Gasbrandes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 4. p. 289.)

Corrigendum.

S. 559, Z. 23 u. 14: Statt „grampositive“ zu setzen: „gramnegative Bacillus, welcher sich jedoch in der Kultur bei Anwendung konzentrierter Farblösung nach Gram färben ließ.“

Erklärung der Abbildungen.**Tafel I.**

- Fig. 1. Gasbacillus; tiefe und oberflächliche Kolonien (Typus B) auf Traubenzuckeragar, 24 Stunden alt. Vergr. 20mal.
 Fig. 2. Gasbacillus; oberflächliche Kolonie (Typus A). Vergr. 60mal.
 Fig. 3. Klatschpräparat von Kolonie Typus B. Vergr. 1000mal.
 Fig. 4. Klatschpräparat von Kolonie Typus A. Vergr. 1000mal.
 Fig. 5. Gasbacillus aus 48 Stunden alter Zuckeragarplattenkolonie. Vergr. 1000mal.
 Fig. 6. Gasbacillus aus 6 Wochen alter Zuckergelatinekultur. Vergr. 1000mal.
 Fig. 7. Desgl.
 Fig. 8. Gasbacillus (aus dem Inhalt der Gasblase beim Meerschweinchen). Kapsel-färbung. Vergr. 1000mal.
 Fig. 9. Gasbacillus, 6 Wochen alte Zuckergelatinestichkultur. Nat. Größe.
 Fig. 10. Meerschweinchen XXVII (Gasbacillusinfektion). Eiterflocke aus dem peritonitischen Exsudate. Gramfärbung. Vergr. 1000mal.
 Fig. 11. Meerschweinchen XXVIII (Granulobacillusinfektion). Eiterflocke aus dem peritonitischen Exsudate. Gramfärbung. Vergr. 1000mal.

Tafel II.

- Fig. 12. Meerschweinchen 15 (Gasbacillusinfektion). Bauchmuskelschnitt. Gram-färbung. Vergr. 100mal.
 Fig. 13. Meerschweinchen XIV (Gasbacillusinfektion). Bauchmuskelschnitt, van Gieson. Vergr. 100mal.
 Fig. 14. Meerschweinchen XIV, Bauchmuskelschnitt, Gramfärbung. Vergr. 500mal.
 Fig. 15. Meerschweinchen XXII. Infektion mit „Granulobacillus I“. Inhalt der Blase am Bauche. Gramfärbung. Vergr. 1000mal.
 Fig. 16. Meerschweinchen XXIII. Infektion mit „Granulobacillus II“. Leber-ausstrich, Gramfärbung. Vergr. 1000mal.

Tafel III.

- Fig. 17. Meerschweinchen XV. Gasbacillusinfektion. Bauchmuskelschnitt. Gram-färbung, Vorfärbung mit Lithionkarmin. Vergr. 40mal.
 Fig. 18. Meerschweinchen XXIII. Granulobacillusinfektion. Bauchmuskelschnitt. Dieselbe Färbung. Vergr. 40mal.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Anaërobiosis.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Sassari.]

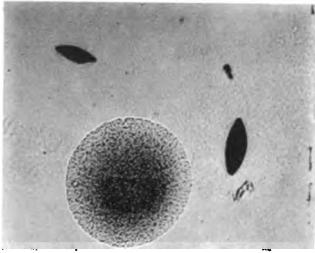
Von Prof. **Claudio Fermi** und **E. Bassu** (stud.).

(Schluß.)

7. Versuch: Entfernung der Luft durch Kohlensäureanhydrit.

Durch die Gummiverschlüsse, welche an beiden Enden eines Rohres von 15 cm Länge und 2 cm Breite befestigt waren, ließen wir durch ein Glasröhrchen 1½ Stunde lang Kohlensäureanhydrit strömen, nachdem wir zuvor ein kleines Röhrchen hineingebracht hatten, welches Pyrogallussäure und Kalihydratlösung, durch einen Paraffinpropfen getrennt und an beiden Enden mit Paraffin geschlossen, enthielt. Am Ende des Versuches ließen wir durch leichte Erwärmung des Apparates und Schütteln sodann die Pyrogallussäure und das Kalihydrat sich verbinden, nachdem wir die Zu- und Abflußröhrchen des Gases mit Pfropfen verschlossen hatten.

Resultat: Schnelle Schwärzung der Mischung.



1



2



3



4



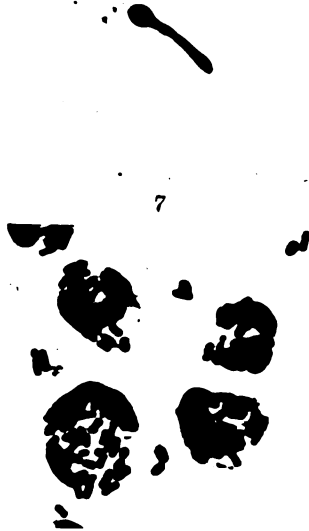
5



6



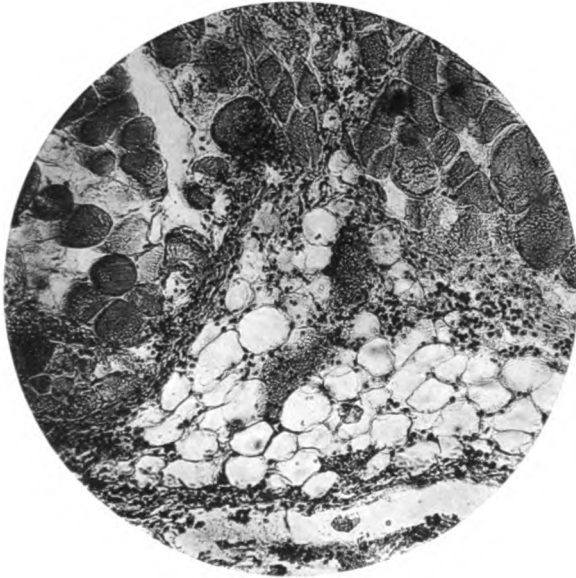
9



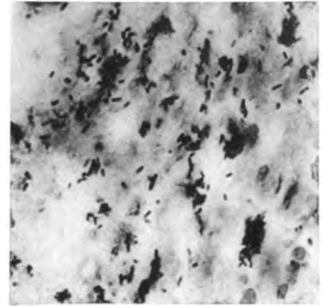
10



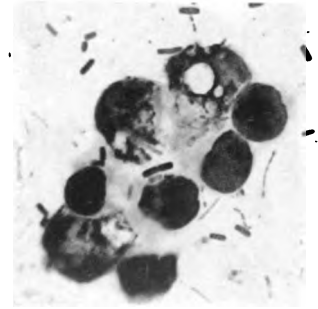
11



12



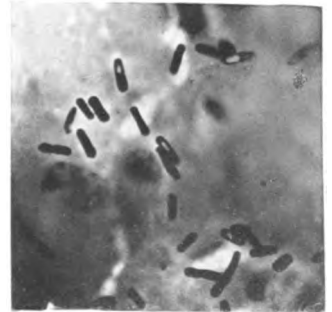
14



15



13



16

Fig. 17.

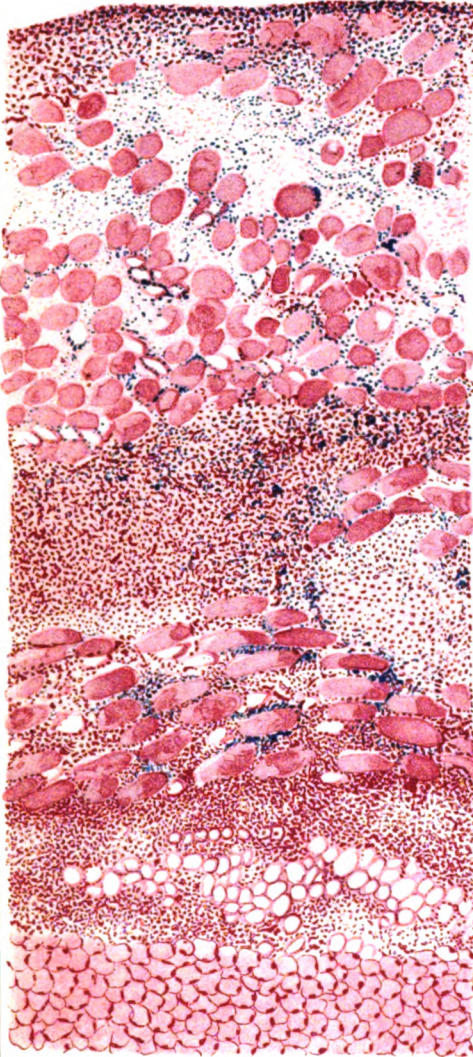
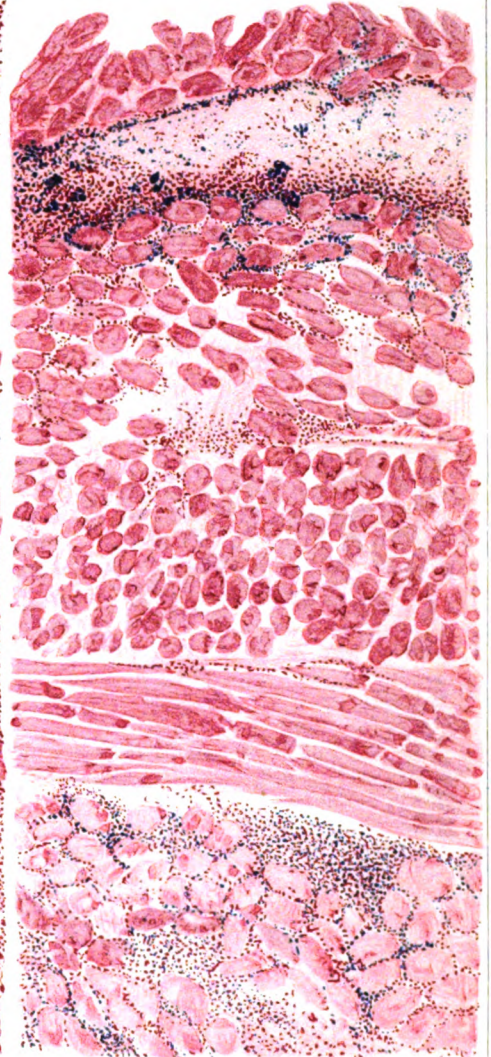


Fig. 18.



8. Versuch: Ersatz der Luft durch Kohlensäureanhydrit.

Der vorhergehende Versuch wurde wiederholt und die Röhren, anstatt mit Pfropfen verschlossen zu werden, wurden verlötet. Nach Verbindung der Pyrogallussäure mit dem Kalihydrat erhielten wir folgendes

Resultat: Schnelle Schwärzung der Mischung.

Die beständige Schwärzung der Mischung beweist deutlich das Vorhandensein des freien Sauerstoffes im Apparate.

Auch abgesehen davon, wie die Versuche uns gezeigt, daß es nicht möglich ist, den Sauerstoff vollständig zu entfernen, wenn man ihn durch andere Gase ersetzt, finden wir, daß einige derselben, wie z. B. Kohlensäureanhydrit, einen schädlichen Einfluß auf die Entwicklung einiger Mikroorganismen haben.

Nur für den Wasserstoff scheint eine Unschädlichkeit bewiesen zu sein, die übrigens auch nicht absolut ist, wie uns die Versuche von A. Klett¹⁾ zeigen.

Derselbe kultivierte 4—5 Monate lang den Milzbrandbacillus in Buchner-Röhren, ohne daß er sich modifizierte, er bildete Sporen durch 15 Generationen, während bei Kulturen, in denen Wasserstoff anwesend war, man nur durch 2 Generationen Sporenbildung erreichte.

Die verschiedenen von uns erhaltenen Entwicklungserfolge beim Kultivieren eines und desselben Mikroorganismus, wie sie aus der folgenden Tabelle zu ersehen sind, beweisen deutlich den Einfluß der Kulturatmosphäre auf die Entwicklung der Einimpfung. Die Versuche und die angestellten Erwägungen führten zu keiner vollständigen Entfernung des Sauerstoffes, nicht einmal nach der v. Petri-Maassenschen Methode²⁾, noch auch nach der von Roux³⁾, durch L. Heins modifizierten; die eine wie die andere beruht gerade auf dem Ersatze der Kulturluft durch ein anderes Gas. Dasselbe kann man von der Petrischen⁴⁾ Methode, welche ebenfalls auf dem Ersatze der Kulturluft durch Wasserstoff beruht, und von der William Bulloch'schen⁵⁾ sagen. Letztere ist eine Modifikation der Botkinschen. Er leitet in der Tat einen Wasserstoffstrom in die Kulturtriben, welche sich verkehrt in einem Becken mit Kal. pyrogall. befinden.

VI. Methode: Bindung des freien Sauerstoffes an den Nährboden mittels beigefügter chemischen Körper.

Dies würde wohl das beste Mittel sein, welches im stande wäre, die vollständige Entfernung des freien Sauerstoffes aus dem Nährboden zu garantieren, wenn nicht die Mehrheit der in Anwendung kommenden Körper im allgemeinen die Entwicklung der Mikroorganismen verhinderte, und zwar ganz unabhängig von der Entziehung des Sauerstoffes, wie E. v. Hibber⁶⁾ für Glycerin und Zucker bewiesen hat,

1) Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaëroben. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900. p. 420—437.)

2) Arb. a. d. kais. Ges.-A. Berlin.

3) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. p. 58.

4) Neue anaërobe Gelatinestäbchenkultur. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 196.)

5) A simple apparatus for obtaining plate cultures or surface growths of obligate anaërobes. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 140.)

6) Zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 517 und Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. p. 41.)

Substanzen, welche die Sporifikation und die Virulenz der Mikroorganismen stören.

Außerdem bemerkt man, daß die bisher gebrauchten reduzierenden Substanzen (Traubenzucker 2 Proz., ameisensaures Natron 0,3—0,5 Proz., indigoschwefelsaures Natron 1 Proz.) ein genügendes Vermögen haben, den Sauerstoff zu binden in einem der Entwicklung von Mikroorganismen nicht nachteiligen Grade.

Substanzen, die eine größere reduzierende Kraft besitzen, wären Kali pyrogallic. und Chromchlorür, jedoch haben sie eine ausgeprägte mikrobentötende Wirkung.

Es bleibt also nur übrig, die Menge der beiden letzteren chemischen Substanzen zu bestimmen, welche dem Nährboden zugefügt werden kann, ohne die kulturellen Eigenschaften zu vermindern.

VII. Methode: Wirkung der O^2 -Bindestoffe außerhalb des Nährbodens.

Buchner war der erste, welcher Kali pyrogallic. (1 g Pyrogallussäure und 10 ccm Kalihydrat, 1 : 10) in einem 22—24 cm langen und 3 cm breiten, mit Gummistöpsel verschlossenen Reagenzglas anwandte.

Arens und Novy änderten den Apparat. Obwohl dies Verfahren eine gute Anaërobie ergibt, ist es doch nicht ausreichend, den Sauerstoff zu binden, wie unser Versuch beweist.

9. Versuch: In eine Kal. pyrogallic.-Lösung in einer Glasschale, so daß $\frac{1}{4}$ derselben mit der Lösung gefüllt war, setzten wir eine kleinere, mit Pyrogallussäure gefüllte Schale mit einem Kalihydratlösung enthaltenden Röhrchen.

Wir schlossen dann den Apparat durch eine geschmirgelte Glasplatte. Der Apparat wurde leicht geschüttelt, damit die beiden Substanzen sich zu Kal. pyrogallic. verbänden.

Resultat: Schwärzung der Mischung. Diese Methode führt also gar nicht zur vollständigen Beseitigung des Sauerstoffes.

James H. Wright¹⁾ hat die Technik dieser Anaërobiosenmethode einer Aenderung unterworfen, ohne jedoch ein besseres Resultat zu erhalten.

Er fügte den nach Esmarch hergestellten, sowie den im Glaskolben gezüchteten Kulturen ein Baumwollenbäuschchen zu, welches er etwas tief in die Mündung des Röhrchens oder des Glaskolbens legte, und gießt darauf $\frac{1}{2}$ ccm Pyrogallussäure (zu gleichen Teilen Wasser und Säure), dann 1 ccm Natr. hydrat. (1 Teil Natrium und 2 Teile Wasser); dann schließt er mit einem Gummistöpsel ab.

Villet²⁾, fürchtend, daß die Mengen der Buchnerschen Lösungen nicht genügend seien, verwandte bis zu 5 g Pyrogallussäure und bis zu 70 g Kalihydrat.

Er zog Milzbrandkulturen, ohne sich jedoch darum zu kümmern, ob im Substrate Sauerstoff zurückgeblieben war oder nicht.

H. Drossbach³⁾ hat als wirksames Bindungsmittel für Sauerstoff Chromacetat und Eisenoxydul empfohlen. Wir haben mit diesen beiden Stoffen Versuche angestellt; die auf diese Weise erhaltene Aërobie erreichte jedoch nicht den erwünschten Grad.

1) A method for the cultivation of anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. No. 2. p. 61.)

2) Villet. A., Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobie. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900. p. 420—437.)

3) l. c. p. 775.

VIII. Methode: Gleichzeitige Kultur der Aërobier und der Anaërobier (Roux, Salomon).

Mittels dieser Methode kann man natürlich nur die Gewißheit einer Verminderung des Sauerstoffes, nie aber dessen vollständige Entfernung erlangen.

Beijerinck hat die vollständige Abwesenheit des Sauerstoffes nicht bewiesen, dadurch, daß er auf einem Nährboden, auf welchem Blastomyceten durch 20—30 Generationen sich entwickelt hatten und dann wegen Mangels an Sauerstoff abgestorben waren, die Entwicklung des *Granulo-Bacterium butyricum* erzielte.

Kedrowsky erreichte in der Tat die Entwicklung der Anaërobier auch in Gegenwart von Sauerstoff, indem er sie auf den Produkten anderer Bakterien züchtete.

IX. Methode: Kombinierte Methoden.

Der Gedanke, verschiedene der beschriebenen Methoden miteinander zu kombinieren, um eine genauere Anaërobiose zu erlangen, war naheliegend.

Fermi¹⁾ versuchte, die Aufkochmethode mit Kal. pyrogallic. außerhalb des Nährbodens zu kombinieren. Zu diesem Zwecke ließ er die Nährböden durch eine Schicht von Paraffin, Vaseline oder Oel aufkochen und rasch abkühlen. Durch das noch nicht gänzlich abgekühlte Paraffin oder Vaseline nahm er die Einimpfung vor und setzte dann die Kultur umgekehrt auf Kali pyrogallic.

Stanislaus Epstein²⁾ kombinierte das mittels einer Quecksilberluftpumpe erhaltene Vakuum und den Ersatz der Kulturluft durch Wasserstoff.

Pasteur selbst sowie Joubert und Chamberland³⁾ bedienen sich einer auf demselben Prinzipie des Vakuums durch die Quecksilberluftpumpe und den Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas aufgebauten Methode, als sie den *Vibrion septique* entdeckten.

Alex Klein⁴⁾ bediente sich der Pumpe und des Pyrogallussäurekalis.

Gustav Kabrhel⁵⁾ wandte Wasserstoff und Kal. pyrogallic. an. William Bulloch⁶⁾ benutzte ebenfalls Wasserstoff und Kal. pyrogallic.

Wenn auch alle bis jetzt erwähnten Methoden ausgezeichnet sind zu Anaërobienkulturen, so entspricht doch keine einzige den beiden folgenden Forderungen, welche zur Lösung der vorliegenden Frage Bedingungen sind.

a) Vollständige Entfernung allen Sauerstoffes aus der Kulturatmosphäre;

b) Ausschluß alles freien, im Nährboden enthaltenen Sauerstoffes.

Im allgemeinen könnte man sagen, daß alle Forscher besonders den zweiten Punkt vernachlässigt haben.

Eine gute, neue Anaërobiosenmethode müßte demnach

1) Celli, Angelo, Manuale dell' ufficiale sanitario.

2) Apparat zur Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 266.)

3) Duclaux, E., Cultures à l'abs. de l'air. (Traité de microbiologie. T. I. p. 117.)

4) Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. p. 967.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 555.

6) Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 140.

1) sämtlichen Sauerstoff der Kulturatmosphäre durch ein indifferentes Gas ersetzen und den Luftaustausch des inneren und des äußeren Raumes verhindern;

2) Entfernung alles freien Sauerstoffes aus dem Nährboden;

3) mit dem Nährboden selbst eine unschädliche reduzierende Substanz vereinigen, die die kleinsten Spuren von Sauerstoff binden könnte, unter der Voraussetzung, daß die Mikroorganismen die Fähigkeit besitzen, im absoluten sauerstofffreien Raume eine Zeit lang zu widerstehen, sich jener kleinsten Spuren von freiem Sauerstoff zu bedienen, welche eingeführt werden, sei es im Augenblicke der Einimpfung oder an den Mikroorganismen selbst haftend, um nachher den aus der Zersetzung des Nährbodens entstehenden Sauerstoff zu benutzen.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß eine gute anaerobische Kulturmethode äußerst kompliziert sein muß.

B. Neue Methoden.

Aus den angestellten kritisch-experimentellen Untersuchungen geht hervor, daß man mit den verschiedenen bisher angewandten Methoden für anaerobische Kulturen nie eine vollständige Entfernung des Sauerstoffes erlangt, da letzterer immer nachweisbar ist.

Wir haben daher einige neue Verfahren ausgedacht, um eine möglichst absolute Anaerobie zu erlangen.

I. neue Methode: Aenderung der kombinierten Methode Fermis.

Da die Kontrollversuche, welche für die verschiedenen Methoden angestellt wurden, die durch Fermis Verfahren erlangten günstigen Erfolge feststellten, haben wir versucht, letzteres zu verbessern.

10. Versuch: Gebrauch von Nährböden, aus denen der Sauerstoff sich am leichtesten entfernen läßt.

Der Zweck dieses Versuches war, festzustellen, aus welchem dieser Nährböden: Fleischbrühe, Gelatine, Agar, der freie Sauerstoff am leichtesten durch Kochen zu entfernen sei, wenn man die Wiederaufnahme desselben durch eine Schicht einer luftdichten Substanz verhinderte.

Wir ließen verschiedene Röhrchen mit Fleischbrühe, Gelatine und Agar $\frac{1}{2}$ Stunde lang in Vaseline bei 105° C kochen — nicht bei höherer Temperatur, weil das Vaseline spritzt — und fügten jedem Nährboden 10 Tropfen einer 5-proz. Pyrogallussäure bei, welche vorher gekocht worden war. Sodann ließen wir die Nährböden weitere 5 Minuten lang kochen. Hierauf gossen wir in jedes Rohr eine Schicht Paraffin, kochten es noch weitere 10—15 Minuten lang; endlich gossen wir 10 Tropfen 5-proz. Kalihydrat, ebenfalls vorher gekocht, dazu.

Aus der nachweisbaren stärkeren oder schwächeren Schwärzung konnte man die größere oder geringere Menge des im Nährboden zurückgebliebenen Sauerstoffes feststellen.

Wir beobachteten den Grad der Schwärzung beim Anfange des Versuches, nach 3 und nach 24 Stunden und nach 8, 20 und 25 Tagen.

Resultat: Die Schwärzung zeigte sich beständig am stärksten im Agar, weniger in der Fleischbrühe und am wenigsten in der Gelatine.

11. Versuch: Untersuchung zur Feststellung, welches die zur Verhinderung des Eindringens von Sauerstoff in den Nährboden geeignetsten Substanzen sind.

Die zu den Versuchen verwandten Stoffe waren Olivenöl, Vaseline, Paraffin und eine Gemenge von Vaseline und Paraffin.

Das Verfahren bei diesem Versuche war identisch mit dem des vorhergehenden.

Resultat: Die geeignetste Substanz, um den Abzug des freien Sauerstoffes aus dem Nährboden zu erreichen und die Ausbreitung desselben in letzteren zu verhindern, ist das Paraffin; die am wenigsten geeignete ist das Oel, vielleicht, weil es mit dem Kali teilweise verseift und sich löst.

12. Versuch: Ueber die Höhe der zu benutzenden impermeablen Schicht.

Durch diesen Versuch wollten wir feststellen, in welcher Höhe die Schicht auf den Nährboden aufgegossen werden mußte, um am besten zu schützen.

Dieser Versuch ist in Bezug auf die Technik den beiden anderen gleich. Der einzige Unterschied besteht darin, daß wir $\frac{1}{2}$ —1—3 ccm Oel, Vaseline, Paraffin, und Paraffin und Vaseline auf den Nährboden gossen.

Resultat: Je höher die Schicht war, welche den Nährboden deckte, desto schwächer war die Schwärzung.

Die Verschiedenheit im Grade der Schwärzung trat weniger deutlich hervor beim Wiederholen der Versuche und wenn wir anstatt einer Lösung ein Stück Kalihydrat in die Substanz warfen.

Dieser Unterschied in den Erfolgen ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß in den Röhren, in welchen eine größere Menge Paraffin war, dieses einen Teil der Kalihydratlösung zurückhielt und somit verhinderte, daß sie sich vollständig mit der Pyrogallussäure des Nährbodens verband.

Bei dem beschriebenen Versuche bemerkte man beim Vergleiche der Schwärzung des Nährbodens gleich nach Anstellung des Experiments mit jener, die man nach 25 Tagen beobachten konnte, daß dieselbe dauernd zunahm und von Tag zu Tag stärker wurde.

Es war daher leicht möglich, daß sich infolge des Mangels an Sauerstoff in der Entwicklung zurückgehaltene Mikroorganismen später, d. h. sobald dieses Gas durch die Schutzschicht hindurch in den Nährboden gedrungen war, weiterentwickeln konnten. Um diesem Uebelstande vorzubeugen, setzten wir die Kulturen umgekehrt in eine Pyrogallussäurelösung, die sich in einem Cylinder befand, der sofort mit einem Gummistöpsel geschlossen wurde, nachdem man einige Tropfen einer Kalihydratlösung in das Röhrchen gegossen hatte.

Zu gleicher Zeit wollten wir feststellen, ob es gleichgültig sei, die Kulturen aufrecht oder umgekehrt in das Kali pyrogallic. zu setzen und die Röhrchen, welche dasselbe enthielten, zu schließen oder offen zu lassen. Wir haben daher hierzu einige Versuche vorgenommen.

13. Versuch: Kulturen in umgekehrten Röhrchen in Kali pyrogallic. gesetzt.

Der Zweck dieses Versuches war, festzustellen, ob es vorteilhafter ist, die Kulturröhrchen aufrecht oder umgekehrt in das Kali pyrogallic. zu setzen.

Resultat: Wir erreichten immer eine stärkere Anaërobiose in den umgekehrten Röhrchen.

14. Versuch: Zu sehen, ob es gleichgültig ist, das Gefäß, welches das Kali pyrogallic. und die Kulturen in Petrischen Schalen oder in umgekehrten Röhrchen enthält, zu schließen oder sie zu lassen mit dem Kali pyrog.

Wir haben die vorhergehenden Versuche wiederholt, indem wir die Kulturen in offene und in geschlossene Gefäße setzten.

Resultat: Es war fast gleichgültig, ob die Gefäße, welche das Kali pyrogallic. enthielten, in das die Kulturen umgekehrt eingesetzt, verschlossen oder offen waren.

Um das Durchdringen des Sauerstoffes durch die Paraffinschutzschicht in das Substrat immer mehr und mehr zu verhindern, sind wir folgendermaßen zu Werke gegangen:

15. Versuch: Neue Methode, den Durchtritt von Sauerstoff durch die Schutzschicht durch die Auflagerung von Kali pyrogallic. auf eine Paraffinschutzschicht zu hindern.

Nach Entfernung des Sauerstoffes durch Abkochen aus dem durch $\frac{1}{2}$ ccm Paraffin geschützten Nährboden wurde, nachdem sich ersteres verdichtet hatte, bis zu 2 cm vom Rande des Röhrchens eine Kali pyrogallic.-Lösung gegossen, dann wurde das Röhrchen bis zum Rande mit Paraffin gefüllt.

Auf diese Weise erreichten wir, daß der Sauerstoff, wenn er auch durch die erste Paraffinschicht drang, von der Kali pyrogallic.-Lösung, die sich unmittelbar unter derselben befand, gebunden wurde, bevor er bis zu dem unterhalb sich befindenden Paraffinschichttrande zum Nährboden dringen konnte.

Resultat: Der Grad der Schwärzung des Kali pyrogallic., des Nährbodens im Momente des Versuches blieb selbst nach einem Monate unverändert.

Das Eindringen des Sauerstoffes wurde somit vollständig verhindert. Auf Grund der durch die angestellten Versuche erhaltenen Resultate können wir die Technik der ersten neuen Methode in folgender Weise schematisch zusammenstellen:

- 1) Eine $\frac{1}{2}$ -stündige Abkochung des Nährbodens unter Zuhilfenahme von $\frac{1}{2}$ ccm Paraffin;
- 2) Schnelle Abkühlung und Impfung durch das noch nicht ganz erkaltete Paraffin;
- 3) Zusatz von $1\frac{1}{2}$ ccm Paraffin;
- 4) Kali pyrogallic.-Lösung bis 2 cm vom Rande des Röhrchens;
- 5) Zusatz von Paraffin bis zur vollständigen Füllung des Röhrchens.

16. Versuch: Ueber den Grad der durch die erste neue Methode erhaltenen Anaërobiose.

Nach dieser Methode erreichten wir folgendes Resultat:

Resultat: Im Vergleiche mit den Kontrollröhrchen zeigten die anaërobischen Kulturen eine spärliche Entwicklung, welche wir mit einigen vereinzelt, im Nährboden zerstreuten Kolonien darstellten.

Unter der Voraussetzung, daß die Mikroorganismen den im Nährboden vorhandenen Sauerstoff ausnützen und vielleicht zeitweise von einer geringen, ihnen anhängenden Menge Sauerstoff erhalten wurden, hielten wir es für angebracht, dem Nährboden eine mit einem stark reduzierenden Vermögen begabte Substanz beizufügen. Wir haben also folgendes Verfahren zusammengestellt:

II. neue Methode: Kali pyrogallic. im Nährboden.

Aus den kritisch-experimentellen Untersuchungen ergab sich, daß das Verfahren mit reduzierenden Substanzen im Nährboden, theoretisch wenigstens, dasjenige ist, welches eine strenge Anaërobiose zu geben im stande ist. Wir bemerkten jedoch, daß die bisher angewandten reduzierenden Substanzen nur eine geringe Bindungskraft besitzen, und daß andererseits die sehr energischen Substanzen die Entwicklung der Mikroorganismen schädlich beeinflussen. Wir haben festgestellt, daß Kal. pyrogallic. eine jener stark reduzierenden Substanzen ist. In dieser Reihe von Versuchen wollten wir daher erproben, in welchem Mischungsverhältnisse das verbrauchte Kali pyrogallic. für die Mikroorganismen unschädlich ist.

17. Versuch: Wirkung auf den Nährboden im momentanen Kontakt mit Kali pyrogallic.

Es wurden Impfungen durch Stich, Aussaat und Bestreichungen vorgenommen auf Substraten, welche auf Glasscheiben gestrichen waren, die auf die Schnittfläche eines Korkes senkrecht aufgesetzt waren. Mit dem Korce wurden sie in Röhren eingesetzt, welche Kali pyrogallic. enthielten. Die Röhren wurden dann rasch eingestülpt, um den Nährboden mit dem Kali pyrogallic. in Berührung zu bringen. Hierauf wurden die Kulturen in den Thermostaten gesetzt.

Resultat: In keiner Kultur zeigte sich eine Entwicklung, während sie in den Kontrollröhren deutlich war, in welchen die Impfplatte durch eine dünne Paraffinschicht bedeckt worden war.

Angesichts dieses Resultates war es natürlich, jenes Mischungsverhältnis des Kali pyrogallic. mit dem Nährboden zu finden, welches letzteren nicht steril machte.

Wir begannen damit, einzeln zu untersuchen, in welchem Mischungsverhältnisse Pyrogallussäure und Kalihydrat den Nährboden nicht mehr sterilisieren.

18. Versuch: Wirkung der dem Nährboden zugefügten Pyrogallussäure.

In Röhren, welche abgekochte Nährböden enthielten und mit einer Paraffinschicht versehen waren, brachten wir Pyrogallussäurelösung in verschiedenen Proportionen und impften durch das noch warme Paraffin.

Resultat: Pyrogallussäure zu 1‰ im Nährboden verminderte die Entwicklung der untersuchten Mikroorganismen nicht, auf welchem wir eine ähnliche Entwicklung erreichten wie auf denen der Kontrollröhren, die nur abgekocht waren.

19. Versuch: Wirkung des im Nährboden aufgelösten Natr.-Carbonats und Kalihydrats auf die Entwicklung der Mikroorganismen.

Wir wiederholten den vorhergehenden Versuch und ersetzten die Pyrogallussäure durch Kalihydratlösung.

Resultat: Natr.-Carbonat auch bis zu 1‰ und Kalihydratlösung bis zu 5‰ hinderte die Entwicklung der Mikroorganismen nicht. Die Entwicklung war konstant derjenigen gleich, die in einfach abgekochten Kontrollröhren auftrat.

Zur Untersuchung der Wirkung des verbrauchten Kali pyrogallic. auf die Entwicklung der Mikroorganismen stellten wir folgenden Versuch an:

20. Versuch: Wirkung des im Nährboden aufgelösten Kali pyrogallic. auf die Entwicklung der Mikroorganismen.

In diesem Versuche war es notwendig, die Wirkung des Kali pyrogallic. als Sauerstoffbinder bei der Züchtung der Mikroorganismen auszuschließen, denn sonst hätte man die Hemmung der Entwicklung nicht allein der direkten Wirkung des Kali pyrogallic., sondern auch der Abwesenheit des Sauerstoffes zu verdanken.

Deshalb versuchten wir es mit anaërobischen Kulturen in folgender Weise:

Den wie gewöhnlich gekochten Nährböden fügten wir Pyrogallussäure und Kalihydratlösung in verschiedenen Proportionen bei und impften.

Resultat: Wir erzielten beständig eine Entwicklung in den Röhren, welche 1—2^o/₁₀₀ Pyrogallussäurelösung und 1—2^o/₁₀₀ Kalihydrat enthielten, gar keine Entwicklung in den anderen Röhren bei 5^o/₁₀₀ zu 1^o/₁₀₀.

Wir nahmen an, daß, wenn wir diese gleiche Menge beider Lösungen in den Nährboden gossen, ein Teil des Kali mit dem Fette des Nährbodens sich verbinden würde, so daß ein großer Teil der Pyrogallussäure freibleib, welcher ausreichte, um die Entwicklung der Mikroorganismen zu hindern. Deshalb wiederholten wir den Versuch mit folgenden Abänderungen:

21. Versuch: Wirkung einer dem Nährboden beigegeführten größeren Menge Natr.-Carbonat als Pyrogallussäurelösung.

Resultat: Bedeutende Entwicklung in allen Röhren, auch wenn wir bis zu 2,5^o/₁₀₀ Pyrogallussäure und 1^o/₁₀₀ Natr.-Carbonat zugossen.

Dieses Resultat führte uns zu dem Schlusse, daß das gesättigte Kali pyrogallic., selbst in verhältnismäßig großen Mengen, die Entwicklung der Mikroorganismen nicht verhindert. Wir sahen deshalb dieses Verfahren in einigen Versuchen angewandt, um den Grad der Anaërobiose festzustellen.

22. Versuch: Ueber den Grad der Anaërobiose der zweiten neuen Methode.

Zur Feststellung der reduzierenden Kraft des Kali pyrogallic. im Nährboden in nicht antiseptischen Mischungen haben wir Kulturen gezüchtet, die mit einer dicken Paraffinschicht bedeckt waren. Sodann impften wir Mikroorganismen, die bereits in dem gewöhnlichen anaërobischen Apparate sich entwickelt hatten.

Die Entziehung des Sauerstoffes war nur der reduzierenden Kraft des dem Nährboden zugefügten Kali pyrogallic. zuzuschreiben.

Resultat: Sehr geringe Entwicklung, während die Mikroorganismen sich sehr gut in den nach den gewöhnlichen Verfahren vorgenommenen Kontrollversuchen entwickelten.

Nachdruck verboten.

Einige bakteriologische Untersuchungen beim Erysipel.

[Aus der medizinischen Klinik zu Breslau.]

Von Privatdozent Dr. **Paul Krause**, Oberarzt der Klinik.

I. Sind die Schuppen von Erysipelkranken infektiös?

Untersuchungen mit Hautschuppen von Patienten, welche Erysipel überstanden haben.

Zu den auch den Laien bekanntesten Erscheinungen der Rekonvaleszenz der akuten Exantheme gehört die Abschuppung, zum Teil wohl auch deshalb, weil allgemein von Aerzten und Laien angenommen wird, daß in den Schuppen der Krankheitserreger noch enthalten oder allgemeiner ausgedrückt, das krankmachende Agens noch wirksam sei.

Die Schuppen von Pockenkranken scheinen, wie ärztliche Beobachtungen zeigen, tatsächlich die Infektion vermitteln zu können. Bei Masern und Scharlach ist über die Uebertragung durch „schuppende Kranke“ viel diskutiert worden; trotzdem ist bisher weder bei Pocken, noch bei Masern und Scharlach eine experimentelle Entscheidung dieser Frage möglich gewesen, aus dem einfachen Grunde, weil wir die Krankheitserreger dieser Krankheiten noch nicht kennen.

Der Krankheitserreger des Erysipels, der *Streptococcus pyogenes*, ist längst genau bekannt.

Es liegt daher der Gedanke nahe, durch exakte bakteriologische Untersuchungen von Schuppen von Erysipelkranken die Frage der Infektiosität der Schuppung näher zu studieren.

Soweit ich die Literatur kenne, hat Eiselsberg¹⁾ die Angabe gemacht, daß er 4mal bei 5 Untersuchungen in den Schuppen Erysipelatöser Streptokokken gefunden habe; damit steht das Untersuchungsergebnis Respingers²⁾ in Widerspruch, welcher in 17 Fällen nur ein einziges Mal bei Entnahme einer Hautschuppe von der Eingangsstelle des Erysipels Streptokokken nachweisen konnte.

Andere Angaben vermochte ich nicht aufzufinden. Es dürfte daher gerechtfertigt erscheinen, einige Untersuchungen über die aufgeworfene Frage mitzuteilen.

Was die Methode anbetrifft, welche ich bei meinen Untersuchungen anwandte, so will ich erwähnen, daß ich die Schuppen teils sofort löste, wie sich die Epidermis abhob, teils dann, als sie völlig locker war.

Ich verwandte sowohl Schuppen von den Randpartieen der erysipelatöser Haut, als auch von den übrigen Teilen derselben.

Ich zerrieb dieselben in einem sterilen Achatmörser möglichst fein; machte davon gewöhnlich 3 mikroskopische Präparate (Färbung mit Methylenblau und nach der Gramschen Methode); injizierte etwa die Hälfte, in sterile Kochsalzlösung gebracht, 2 Mäusen zum Teil intraperitoneal, zum Teil subkutan; den Rest rieb ich fest in Glycerinagarplatten ein und übertrug ihn in sterile Nährbouillon: die beschickten Nährböden wurden bei 37° C aufbewahrt; die Bouillonkulturen untersuchte ich nach 24 Stunden mikroskopisch und säte mehrere Oesen auf Glycerinagar aus.

1) Eiselsberg, Langenbecks Archiv. Bd. XXXV.

2) Respingier, Beiträge zur klinisch. Chirurgie. Bd. XXVI.

Die Untersuchung wurde erst nach 8 Tagen Beobachtung abgeschlossen.

Ich habe auf diese Weise bisher Schuppen von 35 Erysipelkranken untersucht mit dem Ergebnis, daß ich weder mikroskopisch, noch kulturell, noch durch Tierversuch jemals Streptokokken erhalten habe.

In weitaus den meisten Schuppen traf ich Staphylokokken, im größeren Teil der Fälle *Staphylococcus pyogenes albus*, in dem kleineren Teile *Staphylococcus pyogenes aureus*, sehr häufig daneben noch andere, nicht näher studierte Hautkeime.

In 3 Fällen starben die Mäuse nach 4—7 Tagen, ohne daß ich anatomisch einen Grund dafür bei der Sektion auffinden konnte; bakteriologisch zeigten sich Herzblut, Milz und Leber völlig steril; in 5 anderen Fällen starben die Mäuse an Mischinfektion von großen Kokken und Staphylokokken, welche aus dem Herzblute gezüchtet wurden. Die übrigen Versuche verliefen negativ.

Aus meinen Untersuchungen glaube ich den Schluß ziehen zu können, daß in den von mir untersuchten Fällen mit den angewandten Methoden, durch die zweifellos auch quantitativ genügend Untersuchungsmaterial verwendet wurde, sich keine Streptokokken vorfanden: der Krankheitserreger des Erysipels haftet demnach nicht an den Schuppen.

Daher glaube ich berechtigt zu sein, die Ansicht auszusprechen, daß die Gefahr, daß Erysipel durch schuppende Rekonvaleszenten verbreitet werde, zweifellos nur eine sehr geringe sein kann, wenn sie überhaupt jemals in Frage kommt. Daraus aber einen Analogieschluß auf die Infektiosität der Schuppen von Pocken-, Masern- und Scharlachkranken ziehen zu wollen, halte ich trotzdem für unzulässig. Solange nicht das Gegenteil bewiesen ist, dürfte es sich empfehlen, an der durch klinische Beobachtung teils sichergestellten, teils wahrscheinlich gemachten Infektiosität derselben fest zu halten.

II. Enthält der Urin Erysipelkranker Streptokokken?

Jacksch¹⁾ erwähnt in seiner „Klinischen Diagnostik innerer Krankheiten“, daß er beim Erysipel in allen Fällen, wenn sie mit den typischen Symptomen der akuten Nephritis einhergingen, im Urin „die in ihrem morphologischen Aussehen dem *Streptococcus pyogenes* oder *erysipelatos* vollständig gleichenden Pilzformen“ gefunden habe.

Der Harn sei fast immer trüb entleert worden; im ganz frisch gelassenen Urine hätten sich eine Unzahl dieser meist in Kettenform auftretenden Pilze gefunden. Regelmäßig wäre in diesen Fällen mit dem Ablaufe des Erysipels sowohl die Bakteriurie, als auch die Nephritis geschwunden.

Lenhartz²⁾ sagt in seiner Bearbeitung des Erysipels nichts über Streptokokkenbefunde im Harn Erysipelkranker. Auch sonst konnte ich in der Literatur keine Jackschs Angaben bestätigenden Befunde auffinden.

In einer größeren Untersuchungsreihe von Urinen fiebernder Kranker konnte ich auch bisher den Harn von 16 Erysipelkranken mit febriler Albuminurie näher untersuchen.

1) Jacksch, Klinische Diagnostik innerer Krankheiten, 10. Aufl.

2) Lenhartz, Erysipelas in Nothnagels spez. Pathologie u. Therapie.

Nach Reinigung der Urethrae entnahm ich den Harn mit sterilem Katheter, fing ihn in sterile Kölbchen auf und säte ihn baldmöglichst auf Glycerinagar und Nährbouillon aus: sämtliche angelegten Kulturen blieben nach 8-tägigem Verbleiben im Brutschranke bei Körpertemperatur steril.

In 2 Fällen von hämorrhagischer Nephritis bei Erysipelas erhielt ich mittelst der angegebenen Methode einmal Streptokokken, während der zweite sich als steril auswies; in ersterem Falle war neben der Nephritis eine schwere Sepsis mit Erysipelas migrans vorhanden. Hämorrhagische Nephritis ist bei Erysipelas nicht gerade häufig; jedenfalls sah ich sie nur 2mal bei etwa 120 Erysipelfällen.

Der Urin Erysipelkranker mit febriler Albuminurie ist demnach stets steril.

Bei hämorrhagischer Nephritis bei Erysipel können in den Harn Streptokokken übergehen.

III. Blutuntersuchungen bei Erysipelkranken.

Seit der von Canon¹⁾, Sittmann²⁾, Stern³⁾ u. a. in die bakteriologische Technik eingeführten Venenpunktion, welche am besten mit der idealen sterilen Luerschen Glasspritze ausgeführt werden kann (Lenhartz-Schottmüller), sind Blutuntersuchungen am Krankenbette in den letzten Jahren häufiger ausgeführt worden, als früher, bei einer gewissen Uebung ist ein fehlerhaftes Ergebnis durch Verunreinigung mit Hautkeimen so gut wie unmöglich geworden.

Ich wandte in den letzten 1 $\frac{1}{2}$ Jahren auch bei Erysipelaskranken in geeigneten Fällen diese Methode an, um einen Einblick zu gewinnen, ob und wann Streptokokken während der Erkrankung im Blute kreisen.

In der Literatur fand ich eine Angabe von Noordens⁴⁾, welcher im Leichenblute einer an Erysipel verstorbenen Frau Streptokokken nachwies. Petruschky⁵⁾ fand sie im zirkulierenden Blute eines an Wunderysipel leidenden Kranken, Lenhartz⁶⁾ fand sie 2mal im Blute (bei Fällen, welche mit Scharlach infiziert waren); Pfuhl⁷⁾ desgleichen einmal.

Ich habe bisher im ganzen in 16 Fällen je 20 ccm Blut von Erysipelkranken untersuchen können, welches sich sofort nach der Entnahme mit je 6 Röhrchen flüssigen Agars von 41—43° C Temperatur vermischte und in Petrischalen ausgoß.

Die Platten kamen in den Brutschrank bei 37° C und blieben durchschnittlich 8 Tage in Beobachtung. Ich fand in keinem meiner Fälle Streptokokken im Blute, ich bemerke, daß ich meist innerhalb der ersten Stunden des Aufenthaltes des Kranken in der Klinik die Untersuchung vornahm, gewöhnlich bei Anstieg des Fiebers in den Nachmittagsstunden; in der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um den 1. Krankheitstag, doch untersuchte ich absichtlich in einigen Fällen auch an späteren Terminen an frühen Morgenstunden, wie späten Abendstunden: trotzdem gelang es mir nicht, die pathogenen Keime nachzuweisen.

1) Canon, Deutsche med. Wochenschr. 1893.

2) Sittmann, Deutsch. Archiv f. klin. Medizin. Bd. LIII.

3) Stern, Volkmanns Sammlung klin. Vorträge.

4) v. Noorden, Münch. med. Wochenschr. 1887.

5) Petruschky, Zeitschr. f. Hygiene. 1894.

6) Lenhartz, loco citato.

7) Pfuhl, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XII.

Eine Erklärung für diese immerhin auffallende Tatsache könnte man darin finden, daß in dem größten Teile der Erysipelfälle, besonders bei Erysipelas faciei, nur kurz vor Ausbruch des Exanthems die Streptokokken im Blute kreisen: in Fällen, welche zum Tode führen, scheint ja auch der Nachweis derselben im zirkulierenden Blute leicht geführt werden zu können; es gelingt ja auch fast ausnahmslos, wie ich auch aus eigenen früheren Erfahrungen her weiß, in der Milz von an Erysipel Gestorbenen Streptokokken nachzuweisen.

Zur Klärung dieser Fragen werden noch weitere Untersuchungen am Platze sein; die meinigen haben ergeben, daß jedenfalls in leichten und mittelschweren Fällen von Gesichtserysipel schon während des 1. Krankheitsstages das Blut mittelst der angegebenen Methode als frei von pathogenen Keimen bezeichnet werden muß.

IV. Untersuchungen der Blasen und des Blaseninhaltes bei Erysipelas bullosum.

In 8 Fällen von Erysipelas bullosum nahm ich auch die Untersuchung des Blaseninhaltes und der Blasenhaut vor. In jenen Fällen, wo der Inhalt klar serös war, konnte ich weder mikroskopisch, noch kulturell, noch durch Tierversuch Streptokokken nachweisen. Zur mikroskopischen Untersuchung bediente ich mich mit Vorliebe der Gramschen Methode, während ich zur kulturellen Aussaat Nährbouillon anwandte; zu den Tierversuchen benutzte ich Mäuse, welche intraperitoneal geimpft wurden.

Nur in einem Falle, in dem es später zu kutaner Absceßbildung kam, fand ich in dem schon trübenden Blaseninhalte neben zahlreichen polynukleären Leukocyten reichlich Streptokokken, welche sich als tierpathogen erwiesen. Die Blasenhaut wies stets reichliche Bakterien auf, doch konnte ich nie Streptokokken, sondern meist nur weiße Staphylokokken und andere Hautkeime nachweisen. Nach diesen Ergebnissen scheint weder die Blasenwand, noch der klar seröse Inhalt beim Erysipelas bullosum Streptokokken zu beherbergen. Kratzt man vom Grunde einer frischen Blase vom entzündeten Gewebe mit einem Skalpell etwas Zellmaterial ab, so gelingt es meist Streptokokken nachzuweisen.

Als Schlußbemerkung erwähne ich die bekannte Tatsache, daß Eiter aus Abscessen Erysipelatöser stets Streptokokken enthält; auch ich fand in 2 solcher Fälle dieselben in Reinkultur, in einem mit Staphylococcus pyogenes aureus zusammen.

V. Untersuchungen der Luft in der Erysipelbaracke.

Die Angabe Eiselbergs¹⁾ welcher durch Aussetzen von Gelatine-schalen und Agarplatten in der Luft von mit Erysipelkranken belegten Krankenzimmern stets Streptokokken nachweisen konnte, findet sich in vielen Büchern zitiert mit dem Zusatze, daß derselbe Autor die Streptokokken in der Luft dann vermißte, wenn keine Erysipelkranke im Zimmer lagen.

Bakteriologische Luftuntersuchungen von Krankensälen sind seit jener Zeit mit verbesserten Methoden vielfach gemacht worden.

Auch Emmerich²⁾ und Hägler³⁾ konnten in der Luft von

1) Eiselberg, l. c.

2) Emmerich, s. Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen v. Kollé und Wassermann.

3) Hayo Bruns Beiträge. Bd. XXIV. p. 496.

Krankenzimmern, in denen Erysipelkranke lagen, oder gelegen hatten, Streptokokken nachweisen.

Bei meinen eigenen Untersuchungen ging ich so vor, daß ich mehrere Schalen von Glycerinagar offen 3—24 Stunden in die Mitte des Zimmers, etwa 1 m vom Boden entfernt, aufstellte: 5 Versuche stellte ich zu Zeiten an, in welchen keine Kranken in der Erysipelbaracke lagen, 5 zu Zeiten, in denen das Zimmer mit 1—3 Kranken belegt war.

Nach der Exposition wurden die Platten in den Brutschrank (37° C) gestellt und 8 Tage lang beobachtet; ich fand bei der I. Versuchsserie in einem Falle, bei der II. dagegen in 3 Fällen mäusepathogene Streptokokken.

Versuche, welche ich mit der Injektion von Staub (von Türpfosten, vom Spiegel, vom Bettrande) in die Bauchhöhle von Mäusen vornahm, führten zu keinem Ziele, da es mir nicht gelang, Streptokokken aus dem Herzblute von der Infektion erlegenen Tieren zu erhalten, vielmehr fanden sich meist Kokken und Bacillen aller Art darin. Meine Versuche stellte ich während der Winter- und Sommermonate an.

Von Untersuchung der Luft mittelst der Petrischen und Hessschen Methode nahm ich absichtlich Abstand.

Es dürfte sich demnach jedenfalls empfehlen, Zimmer, in welchen Erysipelkranke lagen, von Zeit zu Zeit mittelst Formalin desinfizieren zu lassen, jedenfalls bevor sie mit anderen Kranken belegt werden.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über den Erreger der toxämischen Hämoglobinurie bei dem Vieh in Kuban (Russland).

Von Dr. E. Djatschenko, St. Petersburg.

In die Stadt Kertsch (Krim) wird das Vieh zum Schlachten aus dem Kubanschen Bezirk durch die Stadt Taman (Kaukasus) getrieben, und unter diesem Vieh sind manchmal Erkrankungen an einer fieberhaften Krankheit beobachtet worden, bei der sich der blutige Harn sezerniert; die Aehnlichkeit dieses Harnes mit dem dortigen Rotwein, „Tschischir“ genannt, hat die Bewohner bewogen, auch der Krankheit denselben Namen zu geben.

Veterinärarzt Katschinski (Der Bote der allgemeinen Tierarzneikunde. 1899. No. 13. [Russisch.]) hält sie für die toxämische Hämoglobinurie, die durch malarische Plasmodien hervorgerufen wird. Andere Autoren, die ähnliche Krankheiten in anderen Ländern: in Rumänien (Babes), in Sardinien (San Felice und Lodowico), in Finnland (Krogius und Hellens), in Frankreich (Matthes), in der Türkei (Nicolle und Adil-Bey) und in Texas (Smith und Kilborne, Salmon) beobachtet haben, halten sie für identisch und von ein und demselben Parasiten hervorgerufen, wobei einige von diesen Autoren sie geradezu die Malaria des Viehs nennen.

Durch freundliches Anerbieten und Hilfeleistung des dortigen Tierarztes, Herrn Anitow, habe ich in einem Falle bakteriologische Untersuchungen gemacht. Der Ochse wurde auf dem höchsten Punkte (Akme) der Krankheit totgeschlagen (verendete nicht selbst) und

aus der Milz und Leber wurden sofort Strichkulturen auf dem gewöhnlichen schrägen Agar-Agar, wie auch Ausstriche auf Deckgläsern gemacht. Auf den Deckglaspräparaten (gefärbt mit wäßrigem Gentianaviolett) zeigten sich besondere Spirillen, die auch auf dem Agar in reiner Kultur aufwuchsen (bei 27—30° C). Das Wachstum auf der Oberfläche des Agars war sehr üppig, so daß fast die ganze Oberfläche sehr rasch bedeckt war; die Aussaat stellte dabei eine dicke, milchweiße Auflage von schmantartiger Konsistenz dar, leicht abhebbar, nicht fadenziehend. In der Gelatinestichkultur entstand ein ebenso üppiges Wachstum, ganz an die nagelförmige Kultur des Friedländerschen *Diplobacillus* erinnernd, wobei das Wachstum längs des Stiches nicht tief war. Im Laufe von 10 Tagen verflüssigte sich die Gelatine nicht, dann aber trat allmähliche Verdünnung der oberen Schicht ein und die Kultur lagerte sich bei weiterschreitender Verflüssigung am Boden ab, auf der noch festen Gelatine; die verflüssigte Gelatine war ganz klar (nur mit der Zeit wurde sie gelblich-braun) und auf ihrer Oberfläche war kein Häutchen.

Bei mikroskopischer Untersuchung der erhaltenen Kultur zeigten sich 1) mehr oder weniger lange, dicke, starre Fäden, gerade oder S-förmig gebogen; einige von ihnen waren spindelförmig gespitzt, an einem und abgerundet am anderen Ende; andere waren gleichförmig und an beiden Enden abgerundet; im Innern einiger wurden die rosenkranzartig aneinander gereihten, hellen (nicht färbbaren) Körnchen bemerkt; 2) kürzere, dicke, manchmal kommaförmig gebogene Stäbchen, manchmal an einem Ende zugespitzt und eins oder mehr von den oben erwähnten Körnchen (je nach der Länge von den Stäbchen) enthaltend; 3) runde, kugelförmige, kokkenartige Zellen. Zwischen den kugelförmigen Gebilden und Stäbchen fanden sich alle Uebergangsformen von den kleinsten Stäbchen an, bei denen die Länge kaum die Breite überstieg. Die langen Fäden teilten sich manchmal mit den Scheidewänden in Stäbchen, die bald in Verbindung blieben, bald sich trennten und sich eine von den anderen absonderten, oder manchmal in einem Punkte noch verbunden blieben, einen Winkel zu einander bildend. Alle diese Formen zeigten mehr oder weniger lebhaft fortschreitende Bewegungen, wobei die längeren sich schlangenförmig bogen und schwankten. Auf dem Agar fanden sich oft runde und starre, stäbchenartige und längere Formen; diese beiden letzteren waren meistens an einem Ende zugespitzt und kernhaltig. Feinere, biegsamere, gleichförmige, kernlose Fäden (schraubenförmige auf den Trockenpräparaten) fanden sich nur in verflüssigter Gelatine und in Bouillon. Alle Formen färbten sich leicht mit wässrigen Lösungen von basischen Anilinfarben.

Unglücklicherweise hatte ich in Kertsch keine Möglichkeit, Tierversuche zu machen und impfte nur während 6 Monaten die Kulturen über. Dies gelang mir immer leicht bis zu meiner Rückkehr nach Petersburg, wo dann weitere Abimpfung vollkommen mißlang, wahrscheinlich infolge schädlichen Einflusses der langdauernden Ueberführung. Auch Tierversuche mißlangen mir. Zu den Experimenten waren Kaninchen, weiße Ratten und Mäuse genommen worden, alte und neugeborene, wobei die Impfung unter die Haut und in die Bauchhöhle gemacht, wie auch die Kultur ins Futter gemischt wurde. Es kam Infektion in keinem Falle vor. Ob hier der Grund im Verlust der Lebensfähigkeit der Kulturen oder in der Immunität der Versuchstiere gegenüber unseren

Bakterien, lag, ist schwer zu sagen. Jedenfalls unterliegt ersteres keinem Zweifel, wie oben erwiesen wurde.

Zu der Frage übergehend, ob man dieses Spirillum als den Erreger der Krankheit „Tschichir“ bezeichnen kann, halte ich, abgesehen von den mißlungenen Resultaten der Impfung, dies für vollkommen möglich aus folgenden Gründen: 1) Diese Spirillen (wie man in den Ausstrichpräparaten von dem Milzsaft sehen kann) sind in den inneren Organen des Tieres auf dem höchsten Punkte der Krankheit in großer Menge vorgefunden worden, und zwar als einzige Mikrobenart. 2) Auf dem Agar wuchs reine Kultur derselben Spirillen, von Verunreinigung anderer Mikroben ganz und gar frei. 3) Die Ausstrichpräparate wurden aus der Milz und Leber gleich nach dem Totschlagen genommen, womit die Möglichkeit der Verunreinigung aus der Luft oder des Durchdringens aus dem Darmkanal oder anderen Organen ausgeschlossen ist.

Also ist dieses Spirillum ohne Zweifel in großer Menge in der Milz und Leber des Tieres noch bei seinem Leben auf dem höchsten Punkte der Krankheit gewesen und muß darum ihr Erreger sein. Deswegen mache ich den Vorschlag, dieses Spirillum nach dem örtlichen Namen der Krankheit Spirillum Tschichir zu nennen.

Nachdruck verboten.

Nachforschungen und experimentelle Beobachtungen über die Wutkrankheit¹⁾.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

I. Bericht.

Von Dr. **E. Bertarelli**, Privatdozent, und **G. Volpino**, Assistent.

Die Untersuchungen wurden im Jahre 1902 begonnen. Sie wurden vorzüglich zu dem Zwecke unternommen, um ein praktisches, rasches und sicheres Mittel zur biologischen Diagnostik der Wut an die Hand zu geben und mit künstlichen Hilfsmitteln die Kultivierung des Wutvirus im tierischen Organismus zu erreichen. Dann hatten wir bereits vor dem Erscheinen der Befunde über die neuen endocellulären Körper die Filtration des wutkranken Nervensystems in verschiedener Weise und mit diversen Mitteln ins Werk gesetzt, und dies besonders in der Absicht, um zu einigen neuen Daten über die Größe des vermuteten Wuterregers und über sein Verhalten bei den Filtrationen zu gelangen.

Viele der nacherwähnten Untersuchungen bedürfen weiterer, unter anderen Verhältnissen und mit diversen Mitteln vorgenommener Proben. Wir haben es jedoch für angebracht gehalten, die bis jetzt erhaltenen Ergebnisse (die jedoch weiter nichts als Initialproben darstellen) vorläufig mitzuteilen, besonders angesichts anderer kürzlich erschienener Mitteilungen über analoge und mit den von uns behandelten zuweilen identische Fragen. Aus dem Vergleiche der Ergebnisse der verschiedenen Autoren ist es nun, wenngleich es noch nicht möglich ist, betreffs

1) Ein Auszug dieser Untersuchungen wurde Anfang Juli der R. Accad. med. von Turin überreicht. NB. Die Arbeit selbst wurde im Oktober 1903 in Druck gegeben.

der Aetiologie der Wut absolute Schlüsse zu ziehen, doch angängig, auf den bei dieser Art von Nachforschungen einzuschlagenden Weg zu folgern.

Versuche, das Wutvirus im Organismus zu kultivieren und eine rasche, biologische Diagnostik der Wut zu ermöglichen.

Der letzte Versuch einer besonderen Kultivierung des Wutvirus im Organismus (unabhängig von den Kultivierungsversuchen auf den gewöhnlichen, für die Schizomyceten verwandten Böden) ist der von Kraus, Keller und Clairmont¹⁾. Ihre Bemühungen, das Wutvirus im Gehirn getöteter, dann mit Wutvirus inokulierter und schließlich im kalten Raume gehaltener Tiere zu kultivieren, sind aber ohne Erfolg geblieben. Dieser Versuch mußte natürlich a priori schwere Kritiken und Entgegnungen erzeugen, besonders hinsichtlich der Temperatur, in der der Kultivierungsversuch vorgenommen worden war. Wir dagegen dachten, daß die Wutviruskultivierung gelingen könnte, wenn sie im lokalisierten Segmente des peripheren Nervensystems und in bestimmten Teilen des Markes vorgenommen würde.

Diese Vorvermutung ist gerechtfertigt, wenn man sich die von Di Vestea und Zagari ans Licht geförderten Tatsachen betreffend Transmission der Wut längs der Nerven und die von diesen Autoren und von anderen notierten Erscheinungen über die Infektionsfähigkeit der peripheren Nervenstämmen wutkranker Tiere ins Gedächtnis zurückruft.

Schnitten wir also eine Strecke des Ischiadicus aus und okultierten wir kleine Quantitäten des Virus in den ausgeschnittenen und am Platze belassenen Nerven, so war es, unserem Gedankengange entsprechend, möglich, eine Multiplikation des Virus im ausgeschnittenen Nervenstamme zu erhalten (nachweisbar mit der biologischen Probe, indem man die Nervenemulsion vor der subduralen Einsaat passenderweise verdünnte und dann Serierendurchgänge in anderen, sich in denselben Verhältnissen befindlichen Hüftnerven herstellte), was mit anderen Worten eben eine wirkliche Kultur des lokalisierten Wutvirus bedeutete. Damit nun die Probe für positiv erklärt werden konnte, war es wohlverstanden nötig, daß nicht nur das inokulierte Nervensegment sich vollständig in Wutvirus verwandelt erwies und bei den Serienpassagen in anderen Kaninchen dieselbe Transformation aufwies, sondern es durfte auch das die Kultur tragende Tier keine Wutmanifestationen aufweisen, denn im entgegengesetzten Falle mußte die Probe für negativ gelten, da man immerhin annehmen konnte, daß der ausgeschnittene Nervenstamm infolge einer Diffusion des aus den infizierten Zentren kommenden Virus wutkrank sei.

Die Probe hätte in einem ausgeschnittenen Lendenmarksegmente noch besser gelingen müssen, aber die mit dem Operationsakte (auch bei bester technischer Ausführung und bei Verwendung aller zur Erhöhung der Schnelligkeit und Verringerung des Traumas zu Gebote

1) Kraus, R., Keller, E. und Clairmont, P. Ztschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902. NB. Im Laufe der Arbeit geben wir nur die unentbehrliche Literatur. Bei weiterem Bedarfe verweisen wir auf die Ergebn. d. allg. Pathol. von Lubarsch-Ostertag, Bergmann und auf A. Högyes, Lyssa aus der spez. Pathol. von Nothnagel, wo die Literatur der Wut bis auf die letzten Jahre fast vollständig verzeichnet ist.

stehenden Mittel) immer verbundene, schwere Hämorrhagie riet mir, die Versuche an solchen Marksegmenten einzustellen.

Die an den Nerven vorgenommenen Versuche ergaben negatives Resultat, wie dies auch andere Autoren konstatieren mußten, die wirklich unter viel schlechteren Bedingungen operierten als wir.

Um eine genaue Idee von dem von uns eingeschlagenen Wege zu geben, fasse ich unser Operationsverfahren kurz zusammen: Man legt den Stamm des Ischiadicus unter sorgfältiger Berücksichtigung der Asepsis frei und hebt ihn mit einem breiten Häkchen auf. Hierauf legt man auf eine Strecke von ca. 2 cm 2 Schlingen um den Nerv, verknötet fest, läßt unter dem Nerven einen Streifen desinfizierter Watte durchgleiten und inokuliert schließlich einen kleinen Bruchteil des Virus in das Nerveninnere. Jetzt wird der Nerv mit einem Watteläppchen abgetrocknet und dann unterbunden liegen gelassen oder aber jenseits einer jeden Unterbindung durchgeschnitten.

Wenn das Tier nach einem zwischen 7 und 9 Tagen schwankenden Zeitraume keine Symptome darbot, so legte man den operierten Ischiadicus frei, nahm das unterbundene oder ausgeschnittene Nervenstückchen auf, zerrieb es in physiologischer Lösung zu einer Emulsion und injizierte damit ein anderes Kaninchen in den (ausgeschnittenen oder unterbundenen) Hüftnerf.

Auf diese Weise wurde auch zur III. und IV. Einsaat geschritten.

Wie bereits gesagt, war unsere Bemühung trotz des Opfers vieler Tiere ergebnislos. Einige der Kaninchen und besonders einige derjenigen, bei denen die Inokulation in das unterbundene Nervenstück ausgeführt worden war, starben an Wut, so daß man also annehmen mußte, daß sich das Virus auf dem Lymphwege fortgepflanzt habe oder daß das Virus trotz der Unterbindung durch den Nerv passiert sei. Auch in einem anderen Tiere, bei dem die Herausnahme des Nervensegmentes zur Anwendung kam, beobachteten wir die Diffusion des Prozesses mit letalem Ausgange am 30. Tage (es handelte sich dabei um fixes Virus).

Mit den übrigen Tieren gelang es uns, die Infektion auf den ausgeschnittenen Teil beschränkt zu erhalten, doch verschwand da das Virus nach und nach, anstatt sich zu vervielfachen, und dies sowohl in Bezug auf das fixe wie auch auf das Straßenvirus und Durchgangsvirus. Im allgemeinen war im ausgeschnittenen Nervenstück schon bei der II. Serienpassage jede Spur von Virus verschwunden. Demnach sind also auch diese Kultivierungsversuche des Wutvirus negativ ausgefallen trotz wiederholter Versuche an zahlreichen Tieren.

Im Verlaufe dieser Proben (die wir, da negativ, kurz zusammenfassen und nur deshalb aufführen, weil der von uns eingeschlagene Weg von allen bis jetzt betretenen der logischste zu sein scheint zur Gewinnung einer lokalisierten Wutviruskultur im lebenden Tiere) hatten wir Gelegenheit, einige die Infektionsfähigkeit der verschiedenen peripheren Nerven betreffende Beobachtungen anzustellen, die wir hier wiedergeben, weil sie sich auf etwas bestrittene Fragen beziehen, oder aber bei den verschiedenen Forschern zu zuweilen abweichenden Ergebnissen geführt haben.

So haben wir bei 5 Kaninchen wahrgenommen, daß bei Inokulation von F.V. (fixem Virus) in einen Ischiadicus beim Tode des Tieres auch der andere wutkrank war; in einem 6. Kaninchen konstatierten wir, daß

der anderseitige, in den präagonischen Momenten aufgenommene Nerv effektiv nicht infizierend wirkte.

Außerdem hatten wir hinreichend Gelegenheit, den im Anfange absteigenden und dann aufsteigenden Verlauf des Virus in den Nerven festzustellen. Inokuliert man nämlich mit aller Vorsicht in den Ischiadicus einiger Kaninchen F.V. und schneidet dann den Nerv oben durch, so beobachtet man, daß das Tier an langsam verlaufender Wut stirbt (22—32 Tage).

Daß nun das Virus wirklich in den Nerv hinabgestiegen ist und dann wieder hinaufgestiegen und sich nicht eventuell auf dem Wege der Lymphgefäße oder Blutgefäße verbreitet hat — infolge mangelhafter Technik oder infolge von Mißständen bei dem Operationsakte — war schon dadurch bewiesen, daß man nach Infektion des ausgeschnittenen peripheren Stammes und nach Abtragung eines einige Centimeter messenden Stückes an der Inokulationsstelle (und zwar sofort nach der Injektion) keine Infektion beobachtete, auch wenn man das ausgeschnittene Stück an seinem Orte liegen ließ.

Die von uns zwecks Auffindung eines raschen Mittels zur Diagnose der Wut unternommenen Nachforschungen entfernen sich von den kürzlich von Centanni gemachten. Auch hier dürfte es, da es sich um Versuche mit stets oder fast stets negativem Ausgange handelt, wohl genügen, den eingeschlagenen Weg kurz zu beschreiben, damit es anderen erspart bleibe, bei Behandlung desselben Arguments denselben undankbaren Weg zu gehen.

Wir haben im Serum der wutkranken Kaninchen nach eventuellen Hämolsinen gesucht gegen die verschiedenen Viri, gegen die Blutkörperchen der gesunden und wutkranken Kaninchen und Hunde. Dabei war das Resultat, auch wenn wir die Verdünnungen wechselten und die Gewinnung des Serums in verschiedenen Perioden der Krankheit vornahmen, negativ oder immer unbestimmt.

Wir haben versucht, ob die bis zur Klarheit ausgeführten Filtrationen einer feinen Emulsion von wutkrankem Kaninchen- oder Hundehirn oder normalem Gehirn mit dem Serum wutkranker Kaninchen einen Niederschlag ergeben, aber ebenfalls mit negativem Resultate.

Weiterhin haben wir Kaninchen intravenös F.V. injiziert und nach mehrmonatlicher Behandlung das Serum derselben auf den Gehirne-mulsionsfiltraten wutkranker und normaler Kaninchen versucht, doch war das so erhaltene Ergebnis absolut entmutigend.

Das wird genügen, ohne weitere weniger logische Experimente vorzubringen, deren Erfolg vollständig oder fast konstant negativ war.

Im Verlaufe einiger dieser Proben war es uns gelungen, hinsichtlich der Immunisation der Kaninchen gegen F.V. vermittelst intravenöser Inokulationen verschiedene nicht unbedeutende Beobachtungen zu machen. Der Gegenstand ist jedenfalls interessant, und wenn sich die Gelegenheit dazu bietet, werden wir darauf zurückkommen. An dieser Stelle sei nur daran erinnert, daß die Methode, wenn man fein verriebenes und durch Papier filtriertes Material verwendet, immer dann ernste Gefahren bietet, daß die Kaninchen auf diese Art ungeheuerere Virusmassen vertragen, ohne sich zu infizieren (in 1 Kaninchen inokulierten wir in weniger als 2 Wochen 8 ccm eines bei subduraler Injektion von 2 Tropfen bestimmt infizierenden Materials) und daß schließlich trotz einer verlängerten 4-monatlichen Behandlung unsere immunisierten

Tiere niemals der intranervösen Inokulation widerstanden und desto weniger noch der subduralen von F.V.

Versuche, das Wutvirus zu filtrieren.

Die Versuche, das Wutvirus zu filtrieren, sind nicht neueren Datums. Bert¹⁾ filtrierte zuerst den Speichel eines wutkranken Hundes durch Gips, und fand, daß das filtrierte Liquid inaktiv war. Dieselbe Probe wurde mit demselben Resultate von Nocard²⁾ gemacht. Später versuchte Puech³⁾ Markfiltrationen wutkranker Hunde unter dem Drucke von 3 Atmosphären und erhielt dabei ein weder aktives noch immunisierendes Resultat. In demselben Jahre will Aurep⁴⁾ ein gleiches negatives Filtrat erhalten haben mit den Gehirnen wutkranker Tiere. Dasselbe negative Ergebnis brachten die Experimente De Blasis und Russo-Travalis⁵⁾, zu denen bedeutende Quantitäten filtrierter Flüssigkeiten herangezogen wurden.

In der letzten Zeit haben die Filtrationsproben eine große Bedeutung gewonnen. Viele Forscher haben dieselben dazu zu verwenden versucht, die Größe des Wuterregers zu studieren und zu sehen, ob die von Negri beschriebenen Körperchen als Erreger der Wut selbst angesehen werden können.

Wir bringen hier nur die Forscher in Erwähnung, die neuerdings und mit neuen Gesichtspunkten sich diesem Probleme genähert haben, so Guarnieri⁶⁾, Di Vestea⁷⁾, Remlinger und Riffat-Bey⁸⁾ und ganz zuletzt Schüder⁹⁾, dessen Bericht erschien, als unser Manuskript bereits im Drucke war.

Guarnieri will beobachtet haben, daß das fixe Virus mit Porzellankerzen und guten Papierfiltern auf dem Filter liegen bleibt. Sein Bericht ist jedoch zu kurz gefaßt, um uns ein richtiges Bild von den Proben und der ihnen zukommenden Interpretation geben zu können.

Di Vestea hat die Filtration einer feinen, mit Wutmark (F.V.) stark verdünnten Emulsion mit der F.-Chamberlandschen und der Berkefeldschen Kerze versucht (wahrscheinlich der gewöhnlichen Berkefeld). Er operierte dabei mit ziemlich starken Pressionen (2 bis 6 Atmosphären) und verwandte neue Kerzen. Er zentrifugierte das filtrierte Material und inokulierte bedeutende Quantitäten der verschiedenen Teile der filtrierten und zentrifugierten Flüssigkeit unter die Dura des Kaninchens.

Ausnahmsweise erhielt er von der F. Chamberlandschen Kerze (2mal auf 7) ein aktives Filtrat, häufig von der Berkefeldschen (4mal auf 6). Im allgemeinen hatte er in den injizierten Tieren eine Verlängerung der Inkubationsperiode von 2—3 Tagen.

Remlinger und Riffat-Bey ist es ebenfalls gelungen, in den letzten Monaten den Durchgang des in starken Quantitäten Wasser verdünnten Wutvirus (1 Teil Gehirn auf 300 Teile Wasser) durch die V.-Berkefeld zu erhalten.

1) Bert, Compt. rend. de l'acad. d. sc. T. CCXCV. 1882.

2) Nocard et Leclainche, Les mal. microb. d. animaux. Paris 1903.

3) Puech, Rev. vétér. 1889.

4) Aurep, Virchow-Hirschs Jahresber. 1889, zitiert in Högyes Lyssa.

5) De Blasi e Russo-Travali, Bull. d. soc. d'igiene. Palermo 1889.

6) Guarnieri, La clinica moderna. 1903. Aprile.

7) Di Vestea, Giorn. ital. d. scienze mediche. 1903. No. 6—7.

8) Remlinger et Riffat-Bey, Compt. rend. de la soc. de biol. 1903. Juin.

9) Schüder, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 35.

Kürzlich teilte dann auch Schüder aus dem Kochschen Institute mit, die Passage des Wutvirus (fixes Virus?) durch Kerzen erhalten zu haben, die der cholorigene Vibrio sicherlich nicht passiert, und leitet daraus ab, daß der Erzeuger der Wut einen kleineren transversalen Durchmesser haben müsse als der des Vibrio, und daß folglich die Negrischen Körperchen nicht die ätiologischen Erreger der Wut sein können.

Wie man sieht, interessiert dieses Argument die Forscher in ganz besonderem Maße. Wir haben hier seit 1902 Filtrationsproben unternommen und dieselben viele Male wiederholt; diese Filtrationen verminderten sich dann nach und nach teils wegen der Versuchskosten (da hierzu sehr viele Tiere erforderlich sind), teils auch wegen der Schwierigkeit, Kerzen verschiedener und wohlbekannter Porosität zu bekommen.

Bei diesen Versuchen muß man vor allem die Natur des verwandten Virus gut unterscheiden. Besonders angesichts des Negrischen Befundes muß man zur Interpretation des Befundes selbst nicht allein alle Arten Virus zu den Versuchen heranziehen, sondern zur Filtrationsprobe auch verschiedene Segmente (Gehirnwindungen, Kleinhirn, Mark) der Cerebrospinalachse verwenden, wo die Parasiten verschiedene Formen und Durchmesser haben könnten.

Außerdem muß der Präparation des Materials, seiner Verdünnung, der bei der Filtration verwandten Pression und der Quantität des zu den Probeinokulationen angewandten Materials größte Aufmerksamkeit zugewandt werden. Wird einer dieser Koeffizienten variiert oder modifiziert, so wird damit auch der Erfolg des Experiments variiert. Deshalb ist es also unumgänglich notwendig, daß die in Betracht kommenden Daten keinem Zweifel unterliegen.

Wir fassen hier kurz die ausgeführten Versuchsgruppen und die erhaltenen Resultate zusammen und geben dann einige sie betreffende Beobachtungen. Wie wir bereits vorher erwähnt haben, stellen diese Versuche (für die wir ca. 200 Tiere benötigten) nur einen ersten Teil jener biologischen Untersuchungen dar, die ein wenig Licht auf das komplizierte Feld der Aetiologie der Wut werfen sollen; sie dürfen also nur als Orientierungsversuche aufgefaßt werden.

Unsere ersten Proben wurden mit Chamberland-Kerzen F ausgeführt.

Zu den Versuchen kam Straßenvirus bzw. Durchgangs- und fixes Virus zur Anwendung.

Das Material wurde stets im Mörser mit feinem und gut gewaschenem Sande zerstoßen und verarbeitet.

Die Verdünnungen mit physiologischer Lösung oder Wasser wurden in 1 : 20, 1 : 50 und 1 : 200 verfertigt und die Filtrationen mit Pressionen von 2—5—7 Atmosphären.

Separat haben wir das Gehirn und das Mark von an fixem Virus bzw. Durchgangsvirus und Straßenvirus verstorbenen Kaninchen und Hunden filtriert.

Bei unseren Prüfungen, die sich insgesamt (inbegriffen einige von einem von uns in Bern gelegentlich anderer Untersuchungen ausgeführte) auf ein Dutzend belaufen, ist es uns niemals gelungen, eine infizierende Flüssigkeit zu erhalten.

Dies sowohl mit dem fixen Virus wie mit den anderen Viri.

Das zentrifugierte Filtrat gab kein besseres Resultat.

Wir bemerken, daß die Probeinjektionen in Kaninchen immer unter die Dura vorgenommen wurden, wobei so viel Flüssigkeit eingeführt wurde, als der kleine subdurale Raum es gestattet. Die Injektion selbst wurde natürlich stets langsam und delikate ausgeführt. Für jeden Fall wurden die Injektionen mindestens an 2 Tieren wiederholt.

Die mikroskopische Untersuchung des zentrifugierten Liquids hat zu keinen besonderen Beobachtungen Veranlassung gegeben.

Wir haben auch die kleinen Laboratoriumskerzen verschiedener Art, alles französische Fabrikate, zum Versuche herangezogen, dabei starke F.V.-Verdünnungen angewandt und per Aspiration filtriert (mit einer Depression von 72 cm Quecksilber der Vakuumpumpe). Obgleich nun die Proben 6mal mit feinstem Material wiederholt wurden, war das Ergebnis doch konstant negativ.

In analoger Weise wurde einmal auch nur für das Gehirn eines an fixem Virus verendeten Kaninchens ein gewöhnlicher Filter von Kitasato mit neuer Kerze probiert und dabei per Aspiration filtriert mit nicht viel weniger als 75 cm Depression. Auch bei dieser Probe war das Filtrat negativ.

Dieselben Versuche wurden mit dem Filter von Reichel 3mal wiederholt. Zu denselben diente das ganze Nervensystem an fixem Virus verendeter Kaninchen, nachdem es fein verrieben und über 1:200 verdünnt war; die Aspiration betrug ca. 75 cm Quecksilber. Hinsichtlich der Infektionsfähigkeit des Filtrats war der Mißerfolg ein absoluter.

Zuletzt versuchten wir es mit den Berkefeldschen Filtern. Da wir aber im Anfange keine Serie der Berkefeldschen Kerzen zur Verfügung hatten (dieselben trafen erst nach vielen Monaten ein), haben wir neue Kerzen von den gewöhnlichen ordinären Berkefeldschen angewandt (die Serie, mit der wir seit einiger Zeit experimentieren, ist mit 5—6—7¹/₂—8—9 numeriert; es fehlen immer die absoluten Werte der Porosität).

Mit der gewöhnlichen Berkefeldschen Kerze — die passend mit einem Handgriffe versehen ist, der es gestattet, sie an eine Gay-Lussac'sche Pumpe zu befestigen, haben wir ausschließlich fixes Virus filtriert. Es kamen Zentralnervensysteme der an fixem Virus verendeten Kaninchen zur Verwendung, ohne daß hierzu das Mark von dem Gehirn getrennt worden wäre. Die Zerreibung geschah mit Sand, die Verdünnung mit physiologischer Lösung und immer großen Flüssigkeitsvolumen. Die mit Pressionen von 3—6 Atmosphären vollzogenen Filtrationen ergaben 5mal von 7 eine Flüssigkeit, die, unter die Dura des Kaninchens gebracht, daselbst die Wut erzeugte.

Der Verlauf der Infektion in den wutinfizierten Tieren war nicht uniform: Nur in zwei Fällen hatten wir Tod am Anfange des 8. Tages, bei 8 Kaninchen dauerte die Inkubation der Krankheit fort, je nach den Tieren, vom 9. bis zum 13. Tage.

Bezüglich der Kerzen sei hier ein für allemal bemerkt, daß sie konstant mit Vibrioemulsionen geprüft wurden, und daß alle zur Probe herangezogenen die Passage des Probekeims nicht gestatteten.

Ebenso erinnern wir daran, daß die Wutdiagnose bei den Kaninchen nicht nur auf Grund der Symptomatologie und des Verlaufes der Infektion gestellt wurde, sondern in jedem zweifelhaften Falle Serienpassagen in andere Kaninchen vorgenommen wurden.

Außerdem wurden alle Tiere mindestens 75 Tage lang in Beobachtung gehalten.

Während wir darauf warteten, mit anderen Filtern mit größeren Poren experimentieren zu können und alle diese Proben mit dem Durchgangs- und Straßenvirus auf der Berkefeldschen Serie filtriert zu haben, haben wir auch das Verhalten der verschiedenen Viri großen Papierfiltern gegenüber ohne jede Pression geprüft. Diese Proben hatten insofern ein gewisses Interesse, als wir damit feststellten, mit welcher Leichtigkeit und durch welche Poren die Erreger der Wut ohne Pression passieren, und daraus auch ableiten wollten, mit welcher Schwierigkeit man aus den verschiedenen Teilen des Zentralnervensystems nach den Filtrationen ein infizierendes Liquid erhalten konnte. Und in der Tat haben diese Versuche ziemlich interessante Daten ergeben.

Wie bei den vorhergehenden Proben, haben wir uns auch hier der verschiedenen Kaninchen oder Hunden entstammenden Viri bedient. Das Material wurde in Mörsern mit feinem Sande zerstampft, die Verdünnungen blieben niemals unter 1 : 150.

Zur Filtration wurden aus gewöhnlichem Filtrierpapier hergestellte Filter verwandt, wie solche für saline Produkte gebraucht werden. Diese Papiere haben natürlich keinen sehr konstanten Porositätswert, es ist somit auch die Natur des Versuches etwas grob zu bemessen.

Bei den verschiedenen Filtrationen kommen entweder einfache, erst in physiologischer Lösung gesättigte Filter oder aus einer 3-fachen Papierschicht bestehende Filter zur Anwendung.

Das filtrierte Liquid wird immer mikroskopisch untersucht, aber ohne besondere Färbemethoden.

Die erhaltenen Resultate sind folgende:

Das fixe Virus geht mit relativer Leichtigkeit durch einen einfachen Filter von erwähntem Papier; das Filtrat ist immer infizierend.

Die Inkubationsdauer beträgt gewöhnlich 7 Tage.

Das F.V. passiert ebenfalls leicht durch eine 3-fache Papierschicht, doch haben wir dabei in 4 Proben auf 5 ein interessantes Faktum konstatiert. Die subdural mit dem Filtrat injizierten Kaninchen hatten eine merklich lange Inkubationsperiode zu verzeichnen (niemals weniger als 12 und zuweilen bis zu 28 Tagen) und verhielten sich dabei wie die mit abgeschwächtem Virus inokulierten Kaninchen. Man beachte außerdem, daß das im Filter liegende Material dagegen den Tod in 7 Tagen bewirkte.

Einer solchen Tatsache gegenüber fällt einem unwillkürlich ein, was viele Forscher und bereits Pasteur über die Abschwächung des Virus gesagt haben. Wie bekannt, ist nämlich fast allgemein beobachtet worden, daß die Abschwächung des Wutvirus in einer numerischen Verminderung der Wutkeime besteht; auf der Basis dieser Hypothese (die in der Tat bis heute noch nicht durch direkte experimentelle Versuche unterstützt ist) ist sogar von Högyes ein Impfbehandlungssystem gegründet worden.

Nun ist die Tatsache, daß nämlich die mit Papierfiltern, ohne Pression, fern von Licht und Wärme und ohne Abschwächung des auf den Filter gebrachten Materials (das effektiv auch nach beendeter Filtrierung den Tod bei Kaninchen in 7 Tagen bewirkte) erhaltenen Filtrate sich wie abgeschwächte Viri verhielten, ein hinreichend überzeugender Beweis, daß die Abschwächung durch die numerische Verminderung hervorgebracht wird.

Wie könnte man sich denn sonst in der Tat die Abschwächung des Filtrats anders vorstellen, wenn nicht als ein mechanisches Zurück-

gehalten werden der Keime auf dem Filter und also als eine numerische Verminderung? Für eine andere Erklärung der Abschwächung fehlen erstens alle Faktoren und dann spricht gegen die Hypothese einer durch physikalische Agentien bewirkten Abschwächung die Tatsache, daß das im Filter zurückgebliebene Material sich durchaus nicht abgeschwächt zeigte.

Dieser Beweis einer durch numerische Reduktion herbeigeführten Abschwächung, den wir hier vorbringen, weil er uns von den bis heute gebrachten am tauglichsten scheint, kann nun sehr leicht Entgegnungen hervorrufen. Man denke nur daran, daß bei den Versuchen Di Vesteas und bei den unserigen das Filtrat der Berkefeld sich wie ein fast gar nicht abgeschwächtes Virus verhielt, während doch gerade diese vermutete Verminderung der Keime klar zu Tage treten sollte. Wir leugnen nicht, daß der Einwurf schwerwiegend ist, wenngleich er die beobachteten Tatsachen nicht modifizieren kann. Doch verweisen wir hier darauf, daß man unterscheiden muß zwischen einem unter dem Druck von 4—7 Atmosphären erfolgenden Experiment (was es wahrscheinlich ermöglicht, alle Keime vom in Filtration begriffenen Material zu entfernen) und einer Papierfiltration ohne Pression.

In jedem Falle ist keine andere folgerechte Erklärung dieser Abschwächung gegeben als obenerwähnte.

Zu den Filtrationen des fixen Virus mit einfachen und dreifachen Papierfiltern wurde das Gehirn wie auch das Mark der Kaninchen herangezogen. In beiden Fällen waren die Filtrate infizierend. Die mikroskopische Untersuchung des nach Zentrifugieren des durch den 3-fachen Filter passierten Liquids erhaltenen Sediments tat dar, daß sich darin niemals die roten Blutkörperchen an Größe übertreffende Elemente fanden: So kann man also annehmen, daß die Porenweite des Filters nicht größer als 5μ ist.

Für das vom Kaninchen stammende Passagevirus gelten dieselben für F.V. angeführten Tatsachen, d. h. man erhält sowohl mit einfachen wie mit dreifachen Papierfiltern ohne Pression die Passage des Virus durch das Papier. Ganz analog verhielten sich Gehirn und Mark.

Bezüglich des Straßenvirus haben wir mit dem Gehirn wutkranker Hunde nur 2 Versuche gemacht, bei denen die Negrischen Körperchen groß und charakteristisch waren. Wir mochten nun das Material so sorgfältig zerreiben, wie wir wollten, das aus dem dreifachen Papierfilter kommende Material war wirkungslos, während das nach einfacher Filtration erhaltene Filtrat infizierend war.

Die Ergebnisse vorstehender Filtrationen gestatten eine verschiedenartige Erklärung, die wir im nachstehenden kurz zusammenfassen wollen:

Vor allem kann man als zweifellos annehmen, daß wenigstens bezüglich des F.V. (aus dem kurzen synthetischen Berichte Schüdders kann man nicht entnehmen, ob er auch mit Straßenvirus operierte), der Erreger der Wut oder wenigstens einige Formen desselben oder besondere infektionsfähige Stadien durch die gewöhnlichen Berkefeldschen Kerzen passieren, die die gewöhnlichen Keime des Wassers aufhalten. Da es sich nun um unter bedeutenden Pressionen ausgeführte Filtrationen handelt, so kann

man über den Diameter dieser Erreger oder dieser Formen des Wuterregers nur ein summarisches Urteil abgeben, denn die auf protoplasmatische Elemente (die vielleicht ohne widerstandsfähige Wände sind) ausgeübte Pression könnte den Diameter immerhin verändern und sie so durch Poren hindurchpressen, die unter normalen Verhältnissen denselben Elementen den Durchgang nicht erlauben würden.

Trotzdem aber kann das Maximaldurchmesser dieser Formen doch nur sehr wenige Mikromillimeter betragen, während der Minimaldurchmesser viel niedriger sein muß und sicherlich nicht über $0,5 \mu$ steht. Das wird indirekt auch durch die Papierfiltrationen bewiesen.

Selbstverständlich kann man nicht ausschließen, daß die Durchmesser und besonders das Maximaldiameter bedeutend kleiner sein könnten.

Außerdem ergibt sich noch, daß diese Formen des Wuterregers (wenigstens bezüglich des F.V.) sowohl im Gehirn wie auch im Mark angetroffen werden.

Die bezüglich des Durchgangsvirus unvollständigen Proben erlauben uns nicht, Vieles darüber zu sagen. Infolge seines analogen Verhaltens in einigen Proben könnte man glauben, daß man wenigstens bei Kaninchen auch mit Berkefeldschen Kerzen den Durchgang der Wuterzeuger durch die Kerze erhalten müßte. Doch bleibt es immer eine gewagte Sache, ein Urteil abzugeben, das durch das Experiment gestürzt werden kann. In dieser Hinsicht werden die von uns schon jetzt begonnenen Proben seinerzeit ein gutes Wort mitreden können. Festgestellt ist jedoch, daß das Durchgangsvirus durch die Papierfilter ebenso leicht durchgeht wie das F.V., und daß diese Wutkeime oder besonderen Keimformen bei der Filtration sowohl des Gehirns wie des Markes passieren.

Betreffs des Straßenvirus können wir leider nur wenig sagen. Die einzige bemerkenswerte Tatsache ist die, daß es wenigstens im Gehirn durch dicke Filter, auch von Papier, ohne Druck nicht passiert. Deshalb könnte man also sagen, daß das Straßenvirus (Hundshirn) dort nicht passiert, wo F.V. durchgeht. Hängt das nun von einem tatsächlich größeren Volumen des Erregers ab oder vielleicht von einer engeren Beziehung zwischen Erreger und Gewebeelementen?

Mit den angestellten Proben allein kann man hierauf unmöglich antworten. Man muß hierfür nicht nur auf Berkefeldschen Filtern und Kohlenfiltern und mit verschiedenem Drucke operieren, sondern auch separat mit Gehirn und Mark (was wir zu tun im Begriffe stehen). Denn es ist leicht verständlich, daß, wenn einerseits die Papierfiltrationsproben für ein im Vergleich mit F.V. größeres Volumen des Straßenvirus sprächen und also in gewisser Hinsicht zu gunsten der Hypothese des Parasitencharakters der Negrischen Körperchen ausgelegt werden könnten, und wenn dann andererseits das Rückenmark sich bei der Filtration wie das Gehirn verhielte, man wiederum nicht wüßte, wie man die Filtrationsprobe selbst mit den morphologischen Befunden in Einklang bringen soll. Lassen diese nämlich an eventuelle großformige Erreger im Gehirn denken, so schließen sie deren Gegenwart im Marke aus. Demnach müßte also da, wo das Virus des Gehirns nicht filtriert, noch das Virus des Markes filtrieren, wenn man annimmt, daß dieses Virus an die von Negri beobachteten Körperchen gebunden ist.

Ueberdies will es uns scheinen, daß die einfachen, auf diese Weise ausgeführten Filtrationsproben die Frage nach der Größe des Wut-

erregers nicht lösen können. Es muß daher verwundern, wenn Schüder infolge von positiven Filtrationsproben des Wutvirus (welches Virus er angewandt, ist aus dem kurzen Berichte der Dtsch. med. Wochenschr. nicht ersichtlich) durch Kerzen, die ganz bestimmt cholera-gene Vibrionen zurückhalten, ohne weiteres zu dem Schlusse gelangt, daß die Negrischen Körperchen nicht die Erreger der Lyssa sein können.

Eine auch mit der Chamberlandschen F.-Kerze positive Filtration erlaubt auch bei Verwendung der durch Straßen- oder Durchgangsvirus infizierten Hundshirne nur, zu behaupten, daß der Erzeuger der Wut oder einige seiner Formen sicherlich einen kleineren Durchmesser haben, als der cholera-gene Vibrio. Wie kann man aber ausschließen, daß auch die auf dem Filter zurückgebliebenen Formen, die doch viel größer sind als die durch die Kerze passierten, ein Infektionsvermögen besitzen und also Formen des Wuterregers darstellen?

Damit nun der Beweis schlagend sei, darf er sich (da es sich um ein Virus handelt, das wahrscheinlich nicht von Schizomyceten erzeugt ist und in jedem Falle an intracelluläre Keime gebunden sein kann) nicht allein darauf beschränken, festzustellen, ob das Filtrat gewisser Filter infizierend ist, sondern er muß absolut dartun, ob es nicht gelingt, die Infektionskraft des auf dem Filter zurückgebliebenen Materials zu erschöpfen, sobald man die Filtrationen mit dem auf dem Filter rückständigen und neuerdings verdünnten Materiale wiederholt.

Wenn wir z. B. mit einem von Durchgangsvirus infizierten Hundshirn und der Berkefeldschen Kerze operieren, dabei das auf der Kerze gebliebene Material 5—6mal wieder aufnehmen (indem wir dazu eventuell die Kerze zerbrechen, das Ganze zweckmäßig verdünnen und das Material vor den einzelnen Filtrationsproben mit Pressionsapparaten so gut wie möglich zerkneten, dies um das Verbleiben selbst kleinster Parasiten — da intracellulär — im Materiale auf dem Filter zu vermeiden) und es dann bei einem gewissen Punkte nachzuweisen gelingt, daß der Filtrerrückstand inaktiv ist, so wird man erst dann sagen können, daß wirklich alle Formen des Wuterregers (oder mit anderen Worten das gesamte Virus, in unserem Falle das Durchgangsvirus) einen kleineren Durchmesser haben als die Kochschen Vibrionen, und daß also die intracellulären Formen Negris nicht die Parasiten der Wut sind.

Dies stehen wir nun trotz der technischen Schwierigkeiten im Begriffe zu prüfen.

Die einfachen, wie bisher ausgeführten Filtrationsproben werden jedoch den bereits von Negri gemachten Präjudizialeinwurf niemals ausschließen, daß nämlich neben den größeren Formen des von ihm als Sporentierchen vermuteten Erregers sich auch äußerst kleine vorfinden, die infektionsfähig und im stande sind, alle Filter zu passieren.

Wir kommen also zu dem Schlusse, daß die von uns ausgeführten Filtrationen sowie auch alle von anderen Autoren gebrachten wirklich auf den Gedanken bringen, daß der Wuterreger ziemlich klein ist (in jedem Falle kleiner als die gewöhnlichen Keime des Wassers), dabei aber nicht ausschließen können, daß es größere infizierende Formen gibt. Wenn sie also auch die parasitäre Natur der Negrischen Körperchen in Zweifel ziehen, so können sie dieselben doch des Experiments und der Logik wegen nicht ausschließen.

Filtration der Wutdrüsen und Versuche, das Wutvirus auf dem Wege der Speicheldrüsen zu befördern.

Auch mit den Speicheldrüsen der experimentell wutinfizierten Hunde haben wir einige Filtrationsproben angestellt. Die zur Verwendung kommenden Drüsen waren die Unterzungen- und Unterkieferdrüse, die zerrieben wurden; das breiige Material kam dann in eine physiologische Lösung, auf welche Weise starke Verdünnungen erhalten wurden, die man filtrierte.

Die Filtrationen wurden auf der Chamberland F. (4 Atmosphären Druck) vorgenommen, waren aber negativ. Durch die einfachen oder dreifachen Papierfilter passierte das Virus jedoch auch ohne Pression.

Wir weisen darauf hin, daß einmal im Verlaufe unserer Versuche der Unterkiefer eines sicherlich wutkranken Hundes sich vollständig infektionslos gezeigt hat.

Man merke sich überdies, daß unsere Versuche angestellt wurden, als infolge der Beobachtungen von Nocard und Roux¹⁾ die Drüsen infiziert sein mußten.

Wir haben uns auch gefragt, warum in Wirklichkeit das Wutvirus im Hunde bis zu den Speicheldrüsen gelangt und dies in Perioden, in denen zuweilen nicht einmal das ganze periphere Nervensystem infiziert ist. Handelt es sich hier einfach um eine Diffusion, die mit der längs der Lymphbahnen eintretenden verglichen werden kann? Oder tritt nicht etwa in den Drüsen eine Vermehrung des Virus ein, anstatt einer einfachen Viruselimination, das, schon entwickelt, in die Drüsen selbst gelangt? Und könnte der Wuterzeuger nicht vielleicht in den Drüsen ein besonderes Lebensstadium durchmachen?

Dieses Argument ist gewiß nicht uninteressant. Wir haben nur einfache diesbezügliche Proben gemacht, aber ihr Resultat kann doch nicht verfehlen, die allgemeine Aufmerksamkeit diesem Problem zuzuwenden.

Wir haben nämlich daran gedacht, daß, wenn die Diffusion des Wutvirus in den Drüsen mit der in den peripheren Nerven eintretenden verglichen werden kann, voraussichtlich der Fall eintreten mußte, daß nach Inokulation des Wutvirus ins Drüsenparenchym das Tier gerade so infiziert werden mußte, wie wenn es in die Nerven inokuliert worden wäre. Selbstverständlich durften zur Verhinderung einer Diffusion von den periglandulären Lymphgefäßen aus keine zu starken Virusquantitäten zur Verwendung gelangen.

Dreimal haben wir die Probe vorgenommen und dazu Durchgangsvirus und Straßenvirus in die Unterkieferdrüse injiziert (Injektion ins Parenchym), einmal sogar mit einer ungeheueren Quantität Infektionsmaterial. Aber keiner der 3 Hunde erkrankte an Lyssa.

Ob diese Tatsache nun konstant ist, können wir auf Grund von nur 3 Proben nicht zusichern: Zum mindesten aber muß die Sache sonderbar erscheinen, und das noch viel mehr, wenn man daran denkt, daß einmal die verwandte Virusquantität ganz außerordentlich war. Wahrscheinlich handelt es sich da um eine antivirulente Einwirkung der vorher nicht verletzten Drüse, doch begreift man nicht, weshalb dies nicht auch bei der Straßenvut eintreffen sollte. Oder hängt dies nicht vielleicht eher von der Tatsache ab, daß die Drüse in Wirklichkeit dem

1) Nocard et Roux, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 2—4.

Wutvirus gegenüber nicht mit den peripheren Nerven verglichen werden kann? In diesem Falle wäre es dann abermals nicht leicht verständlich, warum dagegen bei der Hundswut die Drüse zum mindesten nicht anders als die peripheren Nerven infiziert erscheinen.

Es ist in uns infolgedessen der Verdacht aufgestiegen, ob das Virus in den Drüsen nicht vielleicht einen besonderen Lebenszyklus durchmachen könnte und der Mißerfolg unserer Inokulationen eben dieser Tatsache entspringe.

Diese Hypothese hat keine experimentelle Basis. Wenn die Schwierigkeiten, an den Hunden zu operieren, sich den Untersuchungen nicht hindernd entgegenstellen, wird es möglich sein, diesen Zweifel zu lösen und zu sehen, ob die Diffusion des Virus in der Drüse wirklich einer einfachen Passage, nicht etwa einem eventuellen Entwicklungszyklus des Parasiten oder wenigstens einer wirklichen Multiplikation des Virus, ohne biologische Modifikationen, in der Drüse selbst zugeschrieben werden muß.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der experimentellen Lyssa der Vögel.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Joseph-Universität zu Kolozsvár.]

Von Prof. Dr. **Joseph v. Lóte.**

In dem unter meiner Leitung stehenden Institute bildet schon seit dem Jahre 1898 die Forschung der experimentellen Lyssa einen Hauptgegenstand der Untersuchungen. Diese Untersuchungen verzweigten sich nach mehreren Richtungen, und unter anderen ist auch die Frage der experimentellen Lyssa bei Vögeln Gegenstand eingehender Studien geworden. In der ausländischen Literatur finden wir zwar einige Untersuchungen [Gibier¹⁾, Kraus und Clairmont²⁾], welche diese Frage behandeln, dennoch schien unsere Arbeit nicht überflüssig, schon aus dem Grunde, weil vielleicht Rasseverschiedenheiten bei unseren Versuchstieren vorkommen könnten. Um kurz zu sein, sei schon im voraus bemerkt, daß die Versuchstiere immer subdural infiziert wurden, und daß wir uns über die Reinheit der Versuche auch durch Aussaaten auf Agar-Agar überzeugt haben. Der Infektionsstoff war teils Straßenvirus, teils den Kaninchenkörper in mehreren Passagen passiertes, aber noch nicht vollständig fixiertes Virus.

Der erste Versuch wurde an einem Raubvogel-Repräsentanten, dem Mäusehabicht (*Buteo vulgaris*) angestellt. Die Infektion geschah am 11. Januar 1901 mit dem verlängerten Marke eines in der XVII. Passage an Lyssa eingegangenen Kaninchens. Nach 11 Tagen, am 22. Januar, frißt das Tier nicht, krümmt sich traurig zusammen, beobachtet den Menschen aufmerksam, aber sein offener, kühner und provozierender Blick ist wegen der Verengung der Augenspalte getrübt. Wird er gestört, so überkommt ihn ein nicht zu lang dauernder Krampf. Den

1) Recherches expérimentales sur la rage. Paris 1884.

2) Ueber exper. Lyssa bei Vögeln. (Zeitschr. f. Hyg. XXXIV. 1900.)

nächsten Vormittag ruht er meistens auf seine rechte Seite gestreckt. Versucht er zu gehen, so bleibt sein Bestreben wegen der Schwäche des rechten Beines ohne Erfolg; wird er angerührt, so versucht er zu entkommen, wobei seine Beine durch kurze Zeit dauernde tonische Krämpfe befallen werden, seine Flügel ausspreitend, seine Beine halb ausstreckend, schleppt er sich mühsam fort, bei welcher Gelegenheit er mit seinem Schnabel die Erde berührt und klagende Töne von sich gibt. Am dritten Tage kann er schon nicht mehr auf den Beinen stehen, sondern ruht halbausgestreckt auf der rechten Seite. Wird er jetzt angerührt, so bewegt er sich mühsam weiter, währenddem er öfters schreiende Laute von sich gibt. Am 26. Januar in der Frühe wurde er tot aufgefunden.

Aus seinem verlängerten Marke wurden am 26. Januar 2 Kaninchen, 2 Meerschweinchen, 2 Tauben und ein Adler (*Aquila naevia*) infiziert. Die Kaninchen, der Adler und die Tauben zeigten gar keine verdächtigen Symptome, obwohl die Beobachtung der letzteren 15 Monate lang dauerte, hingegen erkrankten die Meerschweinchen nach 24, resp. 29 Tagen und gingen am 29. resp. 31. Tage an typischer Wut ein. Aus dem später (am 27. Februar) eingegangenen Meerschweinchen wurden wieder 2 Meerschweinchen und ein Kaninchen geimpft. Das Kaninchen blieb am Leben, die Meerschweinchen gingen am 28. resp. 31. Tage an typischer Wut ein.

Aus der Klasse der Raubvögel wurden noch 2 Uhu infiziert. Der eine am 25. April 1902 mit dem Marke eines Kaninchens der VIII. Passage. Am 1. Februar 1903 Exitus, ohne verdächtige Symptome aufgewiesen zu haben. Die aus seinem Marke infizierten Meerschweinchen gingen nach 20, resp. 24 Tagen an typischer Wut ein.

Der zweite Uhu wurde am 11. Dezember 1902 aus dem verlängerten Marke eines Kaninchens der XXVI. Passage infiziert. Am 22. Februar 1903, also nach 73 Tagen, Exitus. Die aus ihm geimpften Meerschweinchen gingen am 25., resp. 34. Tage an typischer Wut ein.

Es wurden noch einige Versuche an Hühnern und Tauben angestellt. Am 7. Januar 1903 wurde aus dem Marke eines Kaninchens der XXVIII. Passage ein Huhn und eine Henne infiziert. Am 15. Februar (nach 43 Tagen) nahm das Huhn schon keine Nahrung zu sich, den nächsten Vormittag sahen wir, daß es sich im Kreise drehte, im allgemeinen aber in halb kauender Körperhaltung langsam vorwärts schreitet, jedoch nicht laufen kann. Nachmittags sprang es ein paarmal in die Höhe, fiel aber jedesmal auf den Rücken zurück. Am dritten Tage (den 17. Februar) geht es ihm auffällig besser, es kann gehen, fressen und krähen. Dieser Zustand dauerte bis zum 4. April, zu welcher Zeit die paralytischen Symptome wieder erschienen: Bei der Fütterung versuchte es auch zweimal das Korn zu packen, bis es ihm gelang. In seiner Ruhelage gelassen, krümmt es sich traurig zusammen, aus derselben gestört, erhebt es sich nur mühsam zum Gange und geht schwankend weiter. Der Kamm, die Ohren und die Umgebung der Augen sind auffällig blaß. Das Körpergewicht ist von 1200 g auf 900 g gefallen.

Am 11. April geht es ihm wieder besser, das Körpergewicht nimmt zu und ist am 28. Juli wieder 1200 g. Der Kamm ist jetzt hochrot, aber der Gang ist auch heute noch unsicher; besonders das rechte Bein ist sehr schwach, und daher dreht es sich immer nach rechts, wenn es gestört wird¹⁾.

1) Das Huhn ist am 22. Febr. 1904 bei der Revision der Korrektur noch am Leben.

Die Henne erkrankte am 7. Februar (nach 31 Tagen), und ging nach fortdauernder Paralyse und Anämie am 23. Februar, nach 16-tägiger Krankheit, zu Grunde. Sie verlor von ihrem Körpergewicht 400 g. Eine kleine Besserung war auch in diesem Falle zu sehen. Aus ihrem Marke wurden am 24. Februar eine Henne, ein junges Huhn, 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen infiziert. Die Henne und das Huhn blieben am Leben, ohne irgend welche Erscheinungen gezeigt zu haben. Von den Kaninchen ging das eine am 22. März, also nach 26 Tagen, an typischer Wut ein, das andere blieb am Leben und zeigte gar keine Erscheinungen. Die Meerschweinchen gingen aber nach 9, resp. 12 Tagen unter den Erscheinungen der Wutkrankheit ein. Die aus dem letzten geimpften zwei Kaninchen gingen am 15.—16., der Hund am 9. Tage an typischer Wut ein.

Schließlich wurden am 14. Februar 1903 aus einem Kaninchen der XXXI. Passage noch ein Huhn und eine Henne infiziert. Das Huhn zeigte gar keine Erscheinungen, hingegen erkrankte die Henne am 16. März (nach 40 Tagen) an Wut. Es erschienen die oben kurz erwähnten Symptome, wobei Verschlimmerung und Besserung sich öfters zeigten. Es waren Tage, wo sie gar kein Futter zu sich nahm, und wenn sie gefüttert wurde, konnte sie nicht verdauen, ihr Kropf war mehrere Tage lang voll, das Körpergewicht fiel von 700 g auf 520 g. Auf einmal nahm sie Futter zu sich, gewann ihr früheres Körpergewicht wieder. Eines Tages, als sie, von der Unsicherheit ihres Ganges abgesehen, fast hergestellt erschien, fing sie auf einmal an zu laufen, und hörte nicht früher auf, als bis sie von einem Hindernis aufgehalten wurde, wobei sie in die Höhe sprang. Diese flüchtigen Anfälle wiederholten sich mehrere Male im Tage. Obiger Zustand dauerte einige Wochen lang. Auf einmal bleiben diese Anfälle aus, und am 2. Januar 1903 fing das Tier sogar zu legen an. Am 25. Juli ist der Gang zwar noch unsicher, sie scharrt aber schon fleißig, ihr Kamm ist hochrot, ihr Körpergewicht schon auf 1100 g gestiegen. Sie ist im großen ganzen auch heute in demselben Zustand¹⁾.

Tauben wurden am 29. März 1901 zuerst infiziert mit dem Marke eines Kaninchens der XXIII. Passage. Es wurde eine gewöhnliche und eine edlere Taubenrasse geimpft. Die letztgenannte zeigte gar keine Symptome, sie lebt auch heute noch. Die gewöhnliche Taube wurde aber am 4. Mai nach 35 Tagen krank. Sie sitzt traurig zusammengekrümmt; wird sie gestört, so fängt sie ziemlich rasch ihren Platz zu wechseln an, aber während des Gehens taumelt sie, später nimmt diese Unsicherheit zu; nach 0,5—3 m weitem, ziemlich normalem Gang taumelt sie stark nach rechts und links, meistens aber nach rechts, überdreht sich auch manchmal, oder überpurzelt sich, oder fällt bloß auf ihren Kropf. Den Hals streckt sie nicht nach vorne oder seitwärts, sondern versenkt ihn zwischen ihre Schultern, als ob sie friere, und trollt sich zusammengekrümmt weiter etc. Ihr Gang wird langsam sicherer, ihre Bewegungen gleichmäßiger und abgerundeter, so daß wir sie am 11. Dezember 1902, also nach 1½ Jahr, als vollständig gesund betrachten konnten.

Jetzt wurde sie wieder aus einem Kaninchen der XXVI. Passage einer anderen Untersuchungsreihe geimpft. Das Resultat der zweiten Impfung war vollständig erfolglos. Zu gleicher Zeit

1) 22. Febr. 1904 derselbe Zustand.

wurden als Kontrolle 2 andere Tauben infiziert. Das Männchen ist auch heute noch gesund, das Weibchen hingegen erkrankte den 28. Dezember 1903 (17. Tag) und ging am 6. Januar 1903 (nach 25 Tagen) zu Grunde. Aus dieser wurden 2 Kaninchen und 2 Tauben geimpft. Die Kaninchen leben auch heute noch, ebenso fehlt den Tauben gar nichts.

In einer anderen Untersuchungsreihe wurden am 14. Februar 1903 11 Tauben geimpft aus dem Marke eines Kaninchens der XXXI. Passage. Von diesen wurden 3 nach 11—21 Tagen krank und gingen nach einer 3—4-tägigen Krankheit an Wut ein, die anderen blieben alle am Leben und zeigen auch heute noch gar keine Erscheinungen.

Schließlich wurden noch 2 Tauben mit Straßenvirus infiziert am 7. Januar 1902. Die eine zeigte gar keine Erscheinungen, die andere ging am 19. Januar (nach 12 Tagen) zu Grunde. Wir beobachteten keine typischen Symptome, aber es wurde dennoch ein Kaninchen und ein Meerschweinchen aus dem Marke derselben infiziert. Das Kaninchen blieb am Leben, ohne irgendwelche Erscheinungen gezeigt zu haben, hingegen ging das Meerschweinchen am 1. Februar (also nach 24 Tagen) an typischer Wut ein.

Diese Untersuchungen sind zu wenig umfangreich, als daß man aus denselben weitgehende Schlüsse ziehen dürfte. Aber so viel kann dennoch mit Bestimmtheit gesagt werden, daß es auch unter den Raubvögeln für Wut empfängliche gibt. Die Hühner und die Tauben sind glücklicherweise weniger empfänglich für diese schreckliche Krankheit. Wie nämlich die obenerwähnten Untersuchungen beweisen, erkrankten unter diesen Tieren relativ wenige, diese waren ziemlich lange krank, einige heilten sogar spontan aus, oder man kann ihre Heilung erwarten. Dieser Umstand macht es zugleich wahrscheinlich, daß das Lyssavirus in dem schweren Kampfe mit dem tierischen Organismus in seiner Virulenz abgeschwächt wird, wie dies einige experimentelle Tatsachen zu beweisen scheinen.

Kolozsvár, am 21. November 1903.

Nachdruck verboten.

Die Tetrabothrien der Säugetiere.

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Mit 11 Figuren.

Von diesen sonst ausschließlich Vögel bewohnenden Cestoden finden sich 2 Arten in marinen Säugetieren.

Da dieselben nur sehr wenig bekannt und selten zu sein scheinen, will ich sie hier etwas näher beschreiben, umso mehr, als andere Cyclocephaliden aus marinen Säugetieren nicht bekannt sind, da als einzige Vertreter der Cestoden Bothriocephaliden im Darne angetroffen werden.

Beachtenswerte Angaben über diese Formen finden wir nur bei Monticelli¹⁾ über *Tetrabothrius Forsteri* Krefft, sowie eine kurze summarische Beschreibung in einer von mir früher publizierten Arbeit²⁾.

1) Monticelli, S., Nota interno a due forme di Cestodi. (Boll. dei musei di Zoologia ed Anatomia comparata delle R. Università Torino. Vol. VII. 1882. Fig. 4—13.)

2) Fuhrmann, O., Das Genus Prosthococotyle. (Diese Zeitschr. Bd. XXV. 1899. p. 863.)

Die beiden bis jetzt gefundenen Arten sind:

- 1) *Tetrabothrius Forsteri* Krefft aus *Delphinus delphinus* L. und *Delphinus Forsteri* Grey,
- 2) *Tetrabothrius triangulare* Diesing aus *Delphinorhynchus rostratus* Gm. und *Monoplodon sorverbensis*.

Tetrabothrius Forsteri (Krefft).

Syn. *Taenia Forsteri* Krefft¹).

Prosthecocotyle Forsteri (Krefft) Monticelli und Fuhrmann l. c.

Diese Art wurde zuerst von Krefft in Australien (Port Jackson) in *Delphinus Forsteri* gefunden und mangelhaft beschrieben. Monticelli identifizierte diesen Cestoden mit einer in *Delphinus delphinus* gefundenen Species und gab eine kurze, nicht in allen Punkten ganz zutreffende Beschreibung. Das mir zur Verfügung stehende Material verdanke ich der Freundlichkeit von Prof. Monticelli, welcher auch die Güte hatte, mir seine mikroskopischen Präparate zu überlassen. Obwohl Monticelli in Fig. 4, 5 und namentlich 6 ausgezeichnete Figuren des Skolex gegeben, will ich, weil diese in einer schwierig zu beschaffenden Zeitschrift sich finden, ebenfalls eine solche geben, welche die Eigentümlichkeiten des Kopfes besser als Worte zeigt.

Der Skolex ist rechteckig, 0,18 mm lang, 0,28 mm breit. Die tiefen Sauggruben sind je nach ihrem Kontraktionszustand kreisrund oder wenig länglich-oval. Die für das Genus charakteristischen Oehrchen, Anhängsel oder Saugnäpfe sind relativ klein. Querschnitte durch den Skolex zeigen, daß diese Anhängsel von den Saugnäpfen scharf getrennt sind durch eine Membran, obwohl sie ebenfalls Saugnäpfstruktur besitzen. So scheint hier die Ansicht Pintners²), daß manche Taniaden-saugnäpfe sich auf apikale auxiliäre Sauggruben der Tetrabothrienhaftscheibe zurückführen lassen, einen neuen Beweis zu erhalten. Auf die Muskelverhältnisse im Skolex will ich hier nicht näher eingehen, doch sei erwähnt, daß diese Muskulatur hier viel komplizierter ist als bei den Anoplocephaliden, deren Scolexstruktur wir aus der ausführlichen Arbeit von Lühe³) kennen.

Die Strobila ist 25–65 mm lang und 1,6 mm breit, sie besteht ausschließlich aus kurzen Gliedern, sogar die letzten sind breiter als lang. Die Muskulatur derselben besteht aus 2 Längsbündelzonen; die inneren Längsmuskeln sind aus 12–22 Fasern zusammengesetzt; die äußeren bestehen aus 3–6 Fasern; es sind aber diese Bündel 3–4mal zahlreicher. Diese Zahlenangaben beziehen sich auf die Körperregion, wo alle Geschlechtsorgane gut entwickelt sind. Die Stärke der Bündel nimmt nach vorn etwas ab, die äußere Längsmuskelschicht nähert sich der Cuticula, bis sie im Hals direkt unter derselben liegt. Die Transversalmuskulatur ist gut entwickelt, die Dorsoventalfasern sind namentlich in den lateralen Teilen der Proglottis ebenfalls stark und mit Myoblasten versehen.

Vom Nervensystem im Skolex haben wir nur ein mächtiges zentrales Ganglion gesehen, von welchem man deutlich nur 2 Längsnerven abgehen sieht. Im Hals aber bemerkt man außer den Längsnerven die beiden Begleitnerven und dorsal und ventral noch je 2 schwächere

1) Krefft, G., On Australian Entozoa. (Transact. entomolog. soc. New South Wales. Vol. II. 1873. p. 206. Pl. I. Fig. 4, 5, 6.)

2) Pintner, Th., Versuch einer morphologischen Erklärung des Tetrarhynchensrüßels. (Biolog. Centralbl. Bd. XVI. 1896. p. 258.)

3) Lühe, M., Zur Morphologie des Tanienscolex. Inaug.-Diss. Königsberg 1894.

Längsnerven, welche oft den inneren Längsmuskelbündeln anliegen und deren Faserzahl deutlich reduzieren.

Das Wassergefäßsystem zeigt im Scolex die auffallende Erscheinung, daß es sich nicht in ein Gefäßnetz auflöst, sondern daß die beiden dorsalen Gefäße im Kopf zwischen den Saugnäpfen einfach umbiegen, ohne sich durch zahlreiche Kommissuren zu verbinden, und als ventrale Gefäße in die Strobila ziehen. Nur die ventralen Wassergefäße sind in jeder Proglottis durch ein Verbindungsgefäß verbunden, das oft mit mehrfacher Wurzel aus den Längsgefäßen entspringt. Hier und da löst sich das Quergefäß auch in ein wenig verzweigtes Gefäßnetz auf.

Die Geschlechtsorgane zeigen die typische Anordnung, wie wir sie bei allen Vogeltrabothrien antreffen. In ganz jungen Gliedern legt sich zuerst immer auf der linken Seite der Strobila ein randständiger schmaler Zellstrang an, der aber die Subcuticularzellen nicht erreicht und sich am lateralen Ende keulenförmig verdickt. Aus diesem keulenförmig verdickten Ende bildet sich der tiefere Teil der komplizierten Genitalkloake mit dem männlichen Kloakenkanal, während der Cirrusbeutel dahinter aus einem unscheinbaren Zellhäufchen entsteht. Weiter nach innen sieht man dann das Vas deferens und die Vagina sich differenzieren, letztere geht zu der sich rasch bildenden Keim-Dotterstockzellmasse. Die Genitalkloake ist also nicht ein Einstülpungsprodukt der Körpercuticula, sondern bildet sich getrennt von dieser, erst später sich mit ihr in Verbindung setzend. Der größte Teil der keulenförmigen Zellmasse bildet die von komplizierter Muskulatur umgebene Kloake, die in ihrem Bau und ihrer Struktur eine charakteristische Eigentümlichkeit der Trabothrien bildet. Die Genitalkloake ist tief röhrenförmig, oder wenn kontrahiert, kurz und mit stark gefalteter Wandung versehen, in sie mündet einerseits die Vagina, andererseits ein Kanal am inneren Ende dessen der Cirrusbeutel liegt, und welchen ich den „männlichen Kloakenkanal“ getauft habe. Vor allem dieser Kanal, aber auch die Genitalsinus sind von einer überaus mächtigen, schwer zu entwirrenden Muskelmasse umgeben. Die Existenz des männlichen Kloakenkanals hat zur Folge, daß der Cirrusbeutel sehr weit nach innen verlegt ist und der Cirrus selbst sehr lang, die Kloake und der Kanal sehr kontraktile sein müssen, wenn eine wechselseitige Begattung zwischen verschiedenen Proglottiden derselben oder verschiedener Strobilen statthaben soll. Der Cirrusbeutel ist sphärisch 0,072 mm im Durchmesser messend; er besitzt eine starke Längsmuskulatur, welcher außen zahlreiche Zellen, wohl meist Myoblasten, anliegen. In ihm liegt ein stark aufgerolltes Vas deferens, dessen Endteil den Cirrus darstellt. Eine äußere sowie auch innere Vesicula seminalis fehlt. An Stelle dessen sehen wir das Vas deferens in zahlreichen Schlingen zu den Hodenbläschen ziehen. Dieselben nehmen in voller Entwicklung fast die ganze Höhe des Markparenchyms ein, lassen aber auf der ventralen Seite immer einen schmalen Streifen Markparenchym frei. Sie bilden einen einfachen Kranz um die weiblichen Geschlechtsdrüsen, so daß also zwei Reihen von Hoden die Proglottis durchqueren. Ihre Zahl beträgt 22—24 (nicht 5—7, wie Monticelli angibt).

Die weiblichen Geschlechtsdrüsen liegen in der Mitte der Strobila. Der Keimstock, nur schwach gelappt, liegt fast ganz ventral, ebenso der Dotterstock, der aber vor und nicht wie bei anderen Tänien hinter ersterem liegt. Das Ovar erreicht eine Breite von 0,45 mm, der Dotterstock eine solche von 0,1 mm. Wenn die weiblichen Geschlechtsdrüsen

in voller Entwicklung, so sind die Hoden, namentlich vor und hinter ihnen, stark gepreßt. Die reifen Eizellen zeigen, da sie dicht gedrängt, oft die bizarrsten Formen. In der Mitte ist das Ovarium sehr eng und setzt sich auf der Ventralseite der glockenförmige muskulöse Oocapt an. Links und rechts von ihm finden sich am medianen Verbindungsstück der beiderseitigen Ovarialflügel keine Eier, sondern ein aus platten Epithelzellen bestehender Querschlauch. Der Ovidukt ist in jüngeren Gliedern von hohen Epithelzellen ausgekleidet (Fig. 4). Von der Stelle, wo die Vagina mit dem Keimgang sich vereinigt, wird die

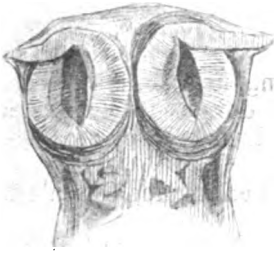


Fig. 1.



Fig. 2.

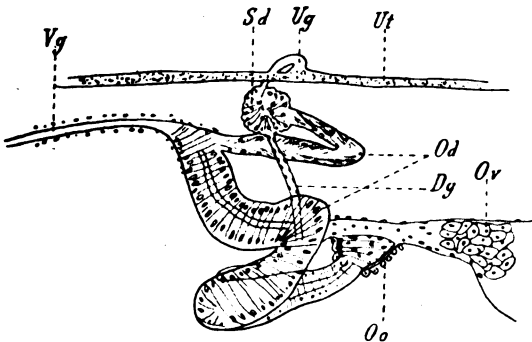


Fig. 3.



Fig. 4.

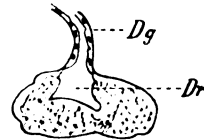


Fig. 5.

Fig. 1. Skolex von *T. Forsteri*.

Fig. 2. Eizellen aus dem Keimstock von *T. Forsteri*.

Fig. 3. Verlauf der weiblichen Genitalgänge von *T. Forsteri*: V Vagina, Od Ovidukt, Ov Keimstock, Oo Oocapt, Sd Schalendrüse, Ug Uteringang, Dg Dottergang, U Uterus.

Fig. 4. Querschnitt durch den Ovidukt.

Fig. 5. Junge Dotterdrüse. Dr Dotterreservoir, Dg Dottergang.

Fortsetzung desselben plötzlich bedeutend enger. Er zieht knieförmig gebogen zur Schalendrüse, um als Uterusgang noch weiter dorsal in den Uterus zu münden (Fig. 3). Da wo die Schalendrüse liegen, steigt der enge mit epithelialer Auskleidung versehene Dottergang von der Ventralseite herauf. Der junge Dotterstock zeigt da, wo der Dottergang entspringt, eine kleine Höhlung, welche wohl die reifen Dotterzellen aufnimmt und so als Dotterreservoir funktioniert (Fig. 5). Die Vagina geht in dorsalwärts gewölbtem Bogen zur Genitalkloake, ohne ein eigentliches Receptaculum seminis zu bilden, das bei anderen Arten des Genus gewöhnlich besteht. Während bei Ovidukt und Uterus-

gang die cuticulare Wandung außen und das Epithel innen, besteht in der Vagina das umgekehrte Verhältnis, indem innen die Membran, außen der wenig scharf begrenzte celluläre Belag liegt. Nicht weit vom Ovidukt entfernt zeigt die Vagina eine sehr enge Stelle, auf welche eine kleine Erweiterung folgt, welche von einer dichten Kernmasse umhüllt ist. Ob hier die Wandung dicker oder von Muskelfasern umhüllt ist, wie die Zellen anzuzeigen scheinen, konnte ich mit Sicherheit nicht nachweisen, ebensowenig, ob wir es hier mit einem Verschlußapparat der Vagina zu tun haben oder nicht. Auf die oft mit kleinem Caecum versehene Erweiterung wird die Vagina wieder etwas enger und verläuft so bis außerhalb der Längsgefäße, wo sie dann bedeutend weiter wird und in die die Kloake umgebende Muskulatur eindringt. Diese Erweiterung der Vagina kann wohl nicht als *Receptaculum seminis* aufgefaßt werden, da sie zu nahe der Ausmündung liegt und übrigens auch meist leer ist. Der Uterus ist anfangs ein dorsal querlaufender Zellstrang, der sich in einen das ganze Markparenchym erfüllenden Sack verwandelt. Reife Eier habe ich keine gesehen.

Nun noch einige Worte über den Verlauf der Geschlechtsgänge zur Genitalkloake.

Während bei allen Tetrabothrien dieselben zwischen den beiden Längsgefäßen des Wassergefäßsystems durchlaufen, sehen wir hier diese Disposition nur ausnahmsweise, indem in den meisten Fällen die Genitalgänge über den Wassergefäßen durchgehen. Obiger für die Tetrabothrien sonst typischer Verlauf scheint sich also hier noch nicht fixiert zu haben. Dies zeigte sich auch noch deutlicher in einer Abnormität, welche ich in einer jungen Proglottis beobachtete und wo die Anlage der Vagina über und unter den dorsalen Längsgefäßen des Exkretionsystems zugleich durchgeht und so einen Ring um das dorsale Gefäß bildet. Eine weitere interessante Anomalie konnte ich in einer reifen Proglottis beobachten, wo die Geschlechtsgänge nicht links, sondern normal struiert rechts ausmündeten, auf der linken Seite aber die Anlage der Genitalgänge vorhanden, aber unentwickelt geblieben war. In einer anderen, jungen Proglottis fand ich dieselben Verhältnisse, aber die doppelten Geschlechtsgänge, Vagina, Vas deferens und Penis gleich gut ausgebildet, so daß wir hier Verhältnisse vor uns hatten, wie sie ähnlich in dem von Jacobi begründeten Genus *Diploposthe* bestehen.

Tetrabothrius triangulare Diesing.

Syn. *Tetrabothrius triangulare* Diesing¹⁾ 2).

Prostheocotyle triangulare Dies. (Fuhrmann l. c. p. 877).

Von dieser eigentümlichen, von Diesing ganz kurz diagnostizierten Art des Genus *Tetrabothrius*, erhielt ich durch die Güte von Prof. E. v. Marenzeller die Original Exemplare der so reichen helminthologischen Sammlung des Wiener Museums. Was an der Art zunächst auffällt, ist die im Vergleich zur Strobila monströse Größe des Scolex, der 5—6 mm im Durchmesser mißt, und dabei eine Länge von 4,5 mm hat. Er besitzt die Gestalt einer vierseitigen, von der Strobila scharf abgesetzten Pyramide, deren Spitze sich in die Proglottidenkette fortsetzt (Fig. 6 u. 7).

1) Diesing, C. M., Systema helminthum. Vol. I. 1850. p. 601.

2) Leidy, J., Notices of Entozoa. (Proceedings Acad. nat. sc. Philadelphia 1890. p. 410.)

Die vier Saugnäpfe sind tief ins Parenchym eingesenkt und der Spitze der Pyramiden genähert, so daß sie ziemlich schwer sichtbar sind, namentlich gilt dies für die ohrenförmigen, für die Tetrabothrien charakteristischen Anhänge, welche nur sehr schwach entwickelt zu sein scheinen. Die äußerst kurzgliederige Strobila ist 32—80 mm lang und bis 2,5 mm breit. Die größte Breite wird im letzten Drittel erreicht, von wo dann die Strobila schmälere und die Glieder etwas länger werden.

Da der Erhaltungszustand kein sehr guter ist, will ich nur anatomisch-topographische Angaben machen.

Die Muskulatur der Proglottiden besteht zunächst aus 2 Längsbündelschichten, von welchen die innere bis 48, die äußere nur aus ca. 5 Fasern bestehende Muskelbündel besitzt. Die Transversalmuskulatur ist stark entwickelt; am seitlichen Rande sieht man die dorsalen und ventralen Fasern sich kreuzen, und zwischen den seitlichen Längsmuskeln durchgehend, nach der Cuticula verlaufen. Die Dorsoventralmuskeln sind fast nur seitlich entwickelt, da die Geschlechtsorgane das ganze Markparenchym vollständig erfüllen. Zwischen den einzelnen Gliedern bleibt eine dünne Wand bestehen, welche außer dem reduzierten Parenchym ein dorsales und ventrales breites Transversalmuskelband, Dorsoventralfasern und sich kreuzende Muskelfaserzüge enthält. Im Scolex ist die Muskulatur im hinteren Teil sehr stark entwickelt, während der größte, vor den Saugnäpfen gelegene Teil muskelarm und von einem lockeren Parenchymgewebe erfüllt ist.

Das Wassergefäßsystem besteht in den Proglottiden aus 2 Längsgefäßen, von welchen das ventrale durch ein am Hinterrand der Glieder gelegenes Verbindungsgefäß verbunden ist. Das ventrale und ganz besonders das dorsale Verbindungsgefäß besitzen eine starke Muskulatur, bestehend aus inneren Längsfasern, äußeren, das Gefäß nur lose umschließenden Ringfasern, wie auch, wenigstens das dorsale Gefäß, zahlreiche Radiärfasern. Ein großer Teil dieser Fasern stammt wohl von den in den lateralen Teilen des Markparenchyms stark gehäuften Dorsoventralfasern. Im Scolex nun zeigt das Exkretionssystem ganz im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Tetrabothrius Forsteri* eine überaus reichliche Verzweigung, indem namentlich der vor den Saugnäpfen gelegene, blasig aufgetriebene Teil des Scolex, direkt unter den Subcuticularzellen, von einem überaus reichen und dichten Gefäßnetz erfüllt ist, wie man solches selten bei Cestoden antrifft. Ueber das Nervensystem kann ich keine weiteren Angaben machen, indem man in der Strobila nur die beiden außerhalb des Wassergefäßsystems gelegenen Längsnerven deutlich sieht.

Die Geschlechtsorgane zeigen in ihrer Disposition einige Modifikationen, welche nicht ganz in das Schema passen, das man sich aus dem Studium der übrigen Tetrabothrien zusammengestellt hat. Doch finden diese Eigentümlichkeiten ihre Erklärung in der bedeutenden Verkürzung der Proglottiden, deren Länge nicht größer ist als der Durchmesser des kleinen Cirrusbeutel (0,07 mm). Diese starke Verkürzung ruft natürlich eine Umstellung der Geschlechtsorgane hervor.

Der männliche Geschlechtsapparat mündet durch einen 0,054 mm langen männlichen Kloakenkanal in die Genitalkloake aus, welche von verhältnismäßig bedeutender Tiefe ist, so daß der Cirrusbeutel ca. 0,2 mm innerhalb des Proglottidenrandes liegt. Die Genitalkloake liegt etwas ventral verschoben, so daß auf Totalpräparaten deren Oeffnung nicht lateral, sondern etwas ventral gelegen erscheint wie bei *Tricho-*



Fig. 6.

Fig. 7.

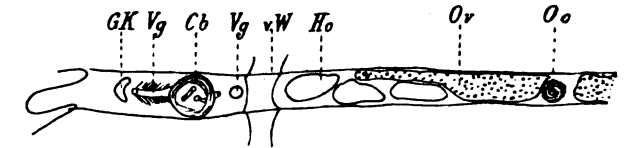


Fig. 9.

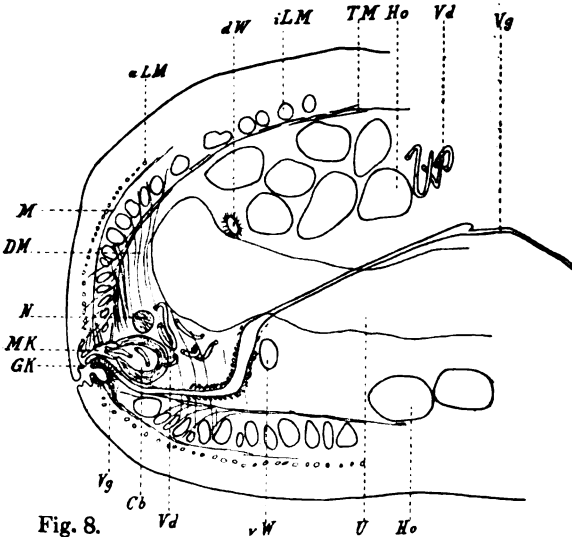


Fig. 8.

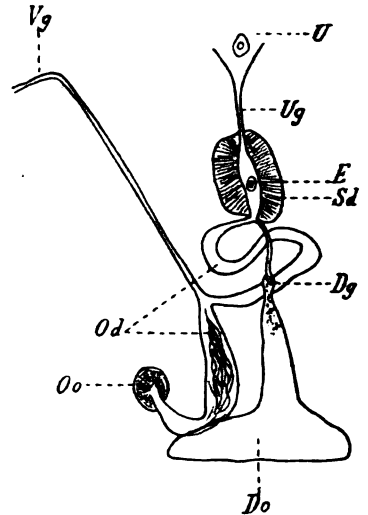


Fig. 10.



Fig. 11.

Fig. 6. *Tetrabothrius triangulare* Dies. 2/1.

Fig. 7. Skolex von unten gesehen, *St* Ansatzstelle der Strobila.

Fig. 8. Teil eines Querschnittes von *T. triangulare*, *aLM* äußere Längsmuskelzone, *iLM* innere Längsmuskelzone, *TM* Transversalmuskeln, *DM* Dorsoventralmuskeln, *M* nur seitlich sich findende, zwischen äußerem und innerem Längsmuskelcystem gelegene Transversalmuskeln, an der Kloake sich fixierend, *dW* dorsales Wassergefäß, *vW* ventrales Wassergefäß, *N* Längsnerv, *Gk* Genitalkloake, *Mk* männlicher Kloakenkanal, *Vg* Vagina, *Cb* Cirrusbeutel, *Vd* Vas deferens, *H* Hoden, *U* Uterus.

Fig. 9. Teil eines Flächenschnittes von *T. triangulare*. Bezeichnungen dieselben wie in Fig. 3. *Ov* Keimstock, *Oo* Oocapt.

Fig. 10. Verlauf der weiblichen Genitalgänge von *T. triangulare*, *Vg* Vagina, *Oo* Oocapt, *Od* Ovidukt, *Do* Dotterstock, *Dg* Dotterstockgang, *Sd* Schalendrüse, *E* Eizelle, *Ug* Uteringang, *U* Uterus.

Fig. 11. Dorsales Längsgefäß des Wassergefäßsystems mit der es umgebenden Muskulatur.

cephaloïdes, wo die Verschiebung aber dorsal und auch etwas bedeutender ist. Der Cirrusbeutel (Durchmesser 0,07 mm) ist sphärisch von einer 0,02 mm dicken Muskelschicht sich wirr kreuzender Fasern umgeben. In ihnen liegt ein stark aufgerolltes Vas deferens, das als Penis weit ausstülpbar ist, und trotz der tiefen Lage der Penistasche weit über den Proglottidenrand sich vorstrecken kann.

Wohl speziell im Dienste der Genitalkloake sind die Muskelzüge, welche ich in Fig. 8 mit *M* bezeichnete und die zwischen den beiden Längsmuskelschichten liegen. Ueber die näheren Muskelverhältnisse der Kloake und des männlichen Kloakenkanals werden noch einige Angaben bei Besprechung der Ausmündung der Vagina erfolgen. Das aus dem Cirrusbeutel austretende Vas deferens zieht in zahlreichen Schlingungen unter den Längsnerven und zwischen den beiden Längsgefäßen des Exkretionssystems durch, um bis zur Mitte der Proglottis als reich gewundener Kanal zu verlaufen.

Die Hoden sind des engen Raumes wegen nicht rein dorsal gelegen (Fig. 8) wie bei anderen Tetrabothrien, sondern sie finden sich überall da, wo zwischen den beiderseitigen Wassergefäßen von den weiblichen Geschlechtsorganen noch etwas Platz übrig gelassen ist. So haben wir solche in größerer Zahl lateral nicht nur dorsal, sondern auch ventral, sogar bis gegen die Mitte der Proglottis, die verhältnismäßig dick ist. Im ganzen sind es etwa 24 Hodenbläschen, welche, wo sie sich uneingeengt entwickelt, die ganze Länge des Gliedes einnehmen, also den gleichen Durchmesser besitzen wie der Cirrusbeutel und so nur eine einfache Querreihe von Hoden sich bilden kann.

Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus einem median gelegenen massigen Keimstock, welcher den von den Hoden freigelassenen Raum vollständig ausfüllt, also Vorder- und Hinterrand der Proglottis berührt (Fig. 9). Statt vor dem Ovarium zu liegen, liegt der Dotterstock ganz ventral unter dem Keimstock, aber so, daß er den Vorder- und nicht den Hinterrand des Gliedes berührt, was als eine Andeutung der generellen Lage aufgefaßt werden kann. Der Verlauf der weiblichen Geschlechtsgänge ist auf Querschnitten wegen der Kürze der Proglittis sehr leicht vollständig zu sehen (Fig. 10). Auf der Ventralseite median beginnt der Ovidukt mit einem mächtigen 0,068 mm im Durchmesser messenden Schluckapparat. Der Ovidukt, der dorsalwärts verläuft, um sich mit der engen Vagina zu vereinigen, ist sehr weit und in befruchteten Gliedern mit zahlreichen Spermatozoen erfüllt, durch welche die Eier zum Uteringang wandern müssen. Der an seiner Ursprungsstelle sehr weite Dottergang mündet vor der Schalendrüse in den Ovidukt (Fig. 10). Die Schalendrüse hat einen größten Durchmesser von 0,09 mm. Der Uteringang ist sehr kurz und mündet direkt in den Uterus. Die Vagina ist ein enger Kanal, der vom Ovidukt aus dorsal aufsteigt sich plötzlich knieförmig umbiegt, wo er dann, wie bei vielen Tetrabothrien, eine plötzliche kleine caekale Erweiterung erfährt, worauf die Vagina mit etwas größerem Durchmesser und stärkerer Wandung ventralwärts über dem ventralen Wassergefäß durch nach dem Rande verläuft. Direkt außerhalb des Wassergefäßes bildet sie nochmals eine knieförmige Biegung, um dann mit dem männlichen Kloakenkanal auf einer Papille in die ventral verschobene Genitalkloake einzumünden (Fig. 8). Dieser außerhalb des Exkretionsgefäßes liegende Teil der Vagina ist verhältnismäßig weit, sehr starkwandig und von zahlreichen Myoblasten, zum Teil aber auch von Drüsenzellen umgeben.

Die umhüllende Muskulatur wird aber erst ganz in der Nähe der Ausmündung deutlich. In der Tat ist der männliche Kloakenkanal und ganz besonders der Endteil der Vagina von einer überaus starken Muskulatur umgeben, welche unter der Genitalpapille eine eigentümliche saugnapfartige Struktur annimmt, über deren Funktion ich mir keineswegs klar bin. In dieser Gegend fixieren sich auch außer den weiter oben erwähnten Muskeln (Fig. 8 *M*) sehr zahlreiche ausstrahlende dorsale und ventrale Transversalmuskeln. Ein eigentliches Receptaculum seminis ist nicht vorhanden.

Der Uterus ist schlauchförmig, dringt seitlich zwischen den Wassergefäßen durch ins laterale Markparenchym; er füllt so allmählich das ganze Markparenchym aus. Das Weitenwachstum des Uterus scheint aber nicht durch den Eintritt und die Ausdehnung der ihn füllenden Eier bedingt zu sein, indem in den letzten Gliedern, wie dies bei Cestoden öfters vorkommt, keine Eier vorhanden sind, der Uterus aber trotzdem vollkommen ausgebildet ist und fast das ganze Markparenchym erfüllt. Es handelt sich dabei nicht um eine Entleerung des Uterus, sondern um Untätigkeit der weiblichen Geschlechtsorgane. Die Eier waren nicht vollkommen reif.

Vergleichen wir nun diese beiden Tetrabothrien der Wale mit denjenigen der Vögel, so sehen wir, daß *T. Forsteri* vollkommen mit den übrigen Arten des Genus übereinstimmt, von einer häufigen Abweichung im Verlauf der ausmündenden Geschlechtsgänge abgesehen. Dagegen zeigt *T. triangulare* in der Form und Struktur des Scolex, an dessen Haftorganen ich die ohrenförmigen Anhängsel nicht mit aller wünschenswerten Deutlichkeit konstatieren konnte, ein ziemlich auffallender Unterschied mit den übrigen Arten. Dazu kommt noch, daß der sonst typisch vor dem Ovarium gelegene Dotterstock unter demselben liegt. Die Verschiedenheiten fallen also auf zwei für das Genus *Tetrabothrius* typische Merkmale. Dagegen zeigt sich andererseits, daß im Verlauf der Geschlechtsgänge und namentlich in die Ausmündung derselben die typischen Dispositionen, wie sie übrigens in keinem anderen bekannten Täniengenus sich wiederfinden, sich entwickelt zeigen. So kann ich mich nicht entschließen, für diese Form ein neues Genus oder Subgenus zu bilden, um so mehr als die nicht generelle Disposition des Dotterstockes wohl einzig auf der auf ein Minimum reduzierten Länge der Gliedes der Strobila beruht.

Nachdruck verboten.

Zum Bau des erwachsenen *Ancylostomum duodenale*.

Von Dr. A. Looss, School of Medicine, Cairo.

Ich habe schon früher gelegentlich erwähnt, daß das Studium der allmählichen Umformungen der Ankylostoma-Larven während ihrer Entwicklung zur Geschlechtsreife eine Revision des Baues des erwachsenen Wurmes notwendig machte. Da das Erscheinen der ausführlichen Arbeit, in welcher die Resultate dieser Revision geschildert werden, voraussichtlich noch einige Zeit auf sich warten läßt, so gebe ich an dieser Stelle ein kurzes vorläufiges Résumé der interessanteren Einzelheiten. Daß in Bezug auf gröber anatomische Verhältnisse nichts wesentlich

Neues herauskommen würde, war vorauszusehen; in der Tat beziehen sich die von mir neu gefundenen Tatsachen fast ausschließlich auf feinere Strukturen. Die Untersuchung der Art und Weise, in welcher die Würmer sich an der Darmwand ihres Wirtes befestigen, führte zu der Erkenntnis, daß die bisher so gut wie allgemein geltenden Ansichten über die Ernährungsweise des Wurmes nicht zutreffend sind.

Mit einer Ausnahme betrachten alle bisherigen Autoren das *Ankylostoma* übereinstimmend als einen Blutsauger, obwohl sie ebenso übereinstimmend berichten, daß unter den von ihnen beobachteten Individuen sich stets eine größere oder geringere Zahl von solchen befand, die kein Blut in ihrem Darm enthielten. Sangalli zieht daraus den Schluß, daß nicht Blut, sondern Darmschleim die normale Nahrung des Parasiten sei (auf die einschlägige Literatur gehe ich an dieser Stelle nicht näher ein). Die Ansicht Sangallis kommt der Wahrheit am nächsten; die wirkliche Nahrung des *Ankylostoma* ist die Darmschleimhaut selbst. Die Tiere verzehren dieselbe, indem sie sich gleichsam in die Schleimhaut hineinfressen, wobei deren Elemente durch das Sekret anscheinend der Oesophagusdrüsen aus ihrem Verbinde gelockert und schließlich verschluckt werden. Gewöhnlich findet man die Würmer mit ihren Köpfen im submukösen Gewebe sitzen; treffen sie dabei zufällig auf ein Blutgefäß, so wird auch dessen Wand korrodiert und das austretende Blut aufgesogen, wenn das Gefäß klein ist; ist es größer, dann tritt das Blut in größerer oder geringerer Menge auch neben dem Wurme aus und bildet die bekannten Hämorrhagien. Daß die Parasiten ihren Sitz allem Anschein nach sehr oft wechseln, ist bekannt; jede verlassene Sitzstelle aber bedeutet ein Loch im Darmepithel; die Zerstörung dieses letzteren wird um so ausgedehnter, je größer die Zahl der Würmer ist, und dürfte neben der Giftwirkung des Kopfdrüsensekretes ein weiteres wichtiges Moment für das Zustandekommen der Erkrankung der Wurmträger sein. In der ausführlichen Arbeit werde ich einige Photographieen von Längsschnitten durch an der Darmwand noch festsitzende Würmer geben, in denen man einen Strang des submukösen Gewebes in den Oesophagus hinein und teilweise durch diesen hindurch kontinuierlich bis in den Darm ziehen sieht.

Was den Bau des *Ancylostomum duodenale* anlangt, so mag zunächst die bemerkenswerte Tatsache erwähnt sein, daß die Beschreibung, welche Leuckart in seinem Parasitenwerke von dem „*Dochmius duodenalis*“ liefert, sich zu einem Teile vollkommen eindeutig nicht auf diese Art; sondern auf den jüngst von Stiles als selbständige Art erkannten *Necator americanus* (= *Uncinaria americana*) bezieht. Die amerikanische Species muß demnach Leuckart bereits vorgelegen haben; es hat sich aber nicht mehr feststellen lassen, woher er das Material erhalten, obwohl die Wahrscheinlichkeit besteht, daß es ihm von Wucherer oder Lutz aus Brasilien zugesandt worden ist. Im Leipziger zoologischen Institute war von eventuellen Resten dieses Materials nichts mehr aufzufinden.

Bei der Beschreibung des äußeren Aussehens des *Ankylostoma* habe ich mich genötigt gesehen, die Bezeichnung der Bursalrippen etwas abzuändern, da die bisher vielfach adoptierte Schneidersche Benennung und Gruppierung der Rippen nicht deren natürlichem Zusammenhange entspricht. Wir müssen 3 Gruppen von Rippen unterscheiden, jede mit einer gesonderten Wurzel aus dem Körper entspringend; die Wurzeln der Ventral- und der Lateralrippen sind auf jeder Seite, also paarig vorhanden, die Wurzel der Dorsalrippen ist unpaar. Die beiden

von Schneider als „Außenrippen“ bezeichneten Rippen nehmen nur dadurch eine Sonderstellung ein, daß sie nicht, wie die übrigen, auf der Innenseite, sondern auf der Außenseite der Bursa in einer Papille endigen; dieser Charakter genügt aber nicht, sie den übrigen gegenüberzustellen. Die „hintere Außenrippe“ Schneiders wird deshalb besser als „äußere Dorsalrippe“ (*Costa dorsalis externa*), die „vordere Außenrippe“ besser als „äußere Lateralrippe“ (*Costa lateralis externa*) bezeichnet.

Haut und Subcuticula bieten nichts Erwähnenswertes.

Die 4 Längslinien oder Längsbänder zeigen eine ziemlich ungleiche Ausbildung. Am schwächsten ist das Rückenband entwickelt, das vorn ungefähr am Ende der Mundkapsel beginnt und hinten auf der Höhe des Anus bereits wieder aufhört. Das Bauchband erreicht ebenfalls den Mundrand nicht, nimmt dagegen hinter dem After eine ganz ungewöhnliche Entwicklung an, indem es zu einem dicken Polster anschwillt, welches sich nach vorn zu der Rückenwand des Rectums auflagert, und, nach hinten allmählich niedriger werdend, bis in die äußerste Schwanzspitze sich erstreckt. Es hat sich als wünschenswert erwiesen, diese postanale Verdickung des Bauchbandes mit einem besonderen Namen zu belegen; ich bezeichne es als *Pulvillus post-analis*. Die beiden Seitenbänder sind ansehnlich entwickelt und reichen vom äußersten Kopf- bis zum äußersten Schwanzende. Beim Männchen nehmen sie einen wesentlichen Anteil an der Bildung der Bursalrippen, deren „Pulpa“ von Ausläufern der Seitenlinien gebildet wird. Erläuternd mag hierzu schon an dieser Stelle bemerkt werden, daß die Schwanzspitze des Weibchens beim Männchen durch die Dorsalrippe repräsentiert wird.

In enger Beziehung zu den Seitenbändern stehen die Kopfdrüsen, da sie sich in ganzer Ausdehnung der dorsalen Hälfte derselben dicht anlagern. Ihr Kern, der an Größe einem fertigen Ei gleichkommt, liegt etwas hinter dem Nervenringe; vor diesem werden die Drüsenkörper zwischen Seitenbändern und Oesophagus stark zusammengepreßt. Im vordersten Ende tritt im Innern der Drüsensubstanz ein außerordentlich feiner Ausführungsgang auf, der dicht am Mundrande und an der Basis des äußeren Hakenzahnes mündet.

Die Muskelzellen haben im Kopffende einen deutlich U-förmigen Querschnitt, werden dagegen im übrigen Körper bedeutend flacher. Die vor dem Nervenringe gelegenen entsenden ihre einfachen Sarkoplasmafortsätze an diesen; einige Muskeln des männlichen Schwanzendes treten durch ihre Fortsätze mit den Seitenlinien, alle übrigen mit den Medianlinien in Verbindung. Neben der genuinen Hautmuskulatur finden sich im Körper des Ankylostoma noch einige Muskeln für spezielle Zwecke. Bekannt von diesen sind die nur beim Weibchen vorhandenen Analmuskeln und die von der Vulvarspalte ausgehenden, nur linksseitig vorhandenen Muskeln, die ich *Musculi vulvares* nennen will. Bei beiden Geschlechtern vorhanden sind die Cephalo-ösophagealmuskeln (*Musculi cephalo-oesophageales*), 4 Paare von Muskelzellen (eins in jedem Quadranten), welche sich auf der Höhe des Nervenringes auf der Außenfläche des Oesophagus ansetzen und von da schräg durch die Leibeshöhle nach vorn verlaufen, wo sie sich zum Teil an der Haut, zum Teil an der Wand der Mundkapsel inserieren. Sie dürften eine gewisse Eigenbewegung des Kopffendes, vor allem aber auch eine Gestaltveränderung der Mundkapsel bewirken. Der Endabschnitt des Chylusdarmes ist von einem beim Männchen sehr dichten, beim Weibchen weniger dichten Maschenwerk von Muskelfasern, den *Musculi intestinales*,

umflochten, welches von zwei symmetrisch rechts und links gelegenen Zellen gebildet wird. Dicht vor dem Uebergange des Chylusdarmes in das Rectum findet sich ferner bei beiden Geschlechtern ein aus einer Zelle bestehender, rektaler Sphinktermuskel, auf den wir noch zurückkommen werden. Ein sehr kompliziertes System von Muskeln tritt endlich im männlichen Schwanzende auf. Ein Teil derselben gehört den inneren Geschlechtsorganen, ein anderer der Bursa an, zu deren Bewegung er dient; wir werden diese Muskeln bei der Besprechung der betreffenden Organe erwähnen.

Verdauungsorgane. Betreffs der Mundkapsel ist zu sagen, daß dieselbe zwar aus einem durchaus einheitlichen Chitinstück besteht, aber durch eine Anzahl von nahtartigen Einschnitten, in denen die Dicke der Kapselwand auf ein Minimum sinkt, in einzelne Stücke geschieden wird, die ähnlich wie die Skelettstücke des Arthropodenpanzers gegeneinander bewegt werden können. Die Innenseite der Mundkapsel ist von einer außerordentlich feinen Membran ausgekleidet, die am Mundrande in die äußere Haut übergeht und nur von den Spitzen der 4 ventralen Hakenzähne durchbrochen wird. Auf der Außenfläche der Mundkapsel findet sich ein dünner, protoplasmatischer Belag; derselbe erweist sich als lamellenartig ausgebreiteten Vorderteile einer Anzahl kleiner Zellen, die sich gegen das Hinterende der Mundkapsel hin von dieser lösen und an die Medianbänder anlegen, längs deren sie als strangförmige Gebilde noch eine Strecke nach hinten laufen. Aehnliche Zellen liegen vom Ende der Mundkapsel ab auch den Seitenbändern an; ihre Vorderenden verbreitern sich ebenfalls beträchtlich und umfassen die Uebergangsstelle von der Mundkapsel in den Oesophagus in Gestalt eines fest anliegenden Bandes, welches ich *Ligamentum cephalo-oesophageale* nennen will.

Im Oesophagus finden sich nahe am Hinterende die 3 kleinen, bereits von Jägerskiöld gesehenen Oesophagealklappen. In der Muskulatur unterscheiden sich die von den Spitzen des 3-spitzigen Lumens ausgehenden Kanten- oder Marginalfasern durch ihr optisches und chemisches Verhalten deutlich von den gewöhnlichen Oesophagealmuskeln, die sich an die Seiten des Lumens ansetzen. Zwischen die Bündel dieser Muskeln lagert sich ein wohlentwickeltes Nervensystem und die Oesophagusdrüsen ein. Ersteres scheint direkt mit dem Nervenringe zu kommunizieren und besteht aus 3 Längsnerven, die in der Mittellinie der 3 Sektoren die ganze Länge des Schlundrohres durchziehen. Sie stehen an 3 Stellen durch ringförmige Querkommissuren miteinander in Verbindung. Von diesen nehmen mehrere feine Nervenendigungen ihren Ursprung; die hinterste Kommissur entsendet feinste Fasern, welche allem Anschein nach in die vordersten Zellen des Chylusdarmes eindringen und dort endigen. Die Oesophagusdrüsen sind alle drei vorhanden, gehen aber im äußersten Hinterende des Oesophagus kontinuierlich ineinander über. Der Kern der dorsalen Drüse ist ansehnlich groß, die Drüse selbst mündet am Vorderende der „dorsalen Rinne“ in die Mundhöhle. Die subventralen Drüsen besitzen nur ganz unscheinbare Kerne und münden auf der Höhe des Nervenringes, d. i. an der bereits von Jägerskiöld bezeichneten Stelle, durch außerordentlich feine Poren in das Lumen des Schlundes. Alle 3 Drüsen bestehen aus einem wenig oder gar nicht verästelten Hauptstamme, der in der Mittelebene des betreffenden Oesophagussektors vom Porus aus nach hinten läuft und sich dicht am Ende desselben in 2 Aeste teilt.

Diese kehren in den Seiten ihres Sektors nach vorn zurück und entsenden auf ihrem Wege eine große Anzahl von Ausläufern nach der Mittelebene zu, die aber nicht mit dem Hauptstamme in Verbindung treten, sondern blind endigen. Von diesen rücklaufenden Stämmen sind immer je 2 benachbarte, aber verschiedenen Sektoren angehörige im Hinterende durch einen kurzen Quergang miteinander verbunden, so daß hier ein geschlossener Ring von Drüsensubstanz vorhanden ist; in diesem liegen auch die Kerne.

Der Chylusdarm ist gegen den Oesophagus durch die bekannten Klappen („Intestinalklappen“) abgeschlossen; sie repräsentieren nur Faltungen des freien Randes eines muttermundartigen Ringwulstes, der vom Ende des Oesophagus aus in das Darmlumen hineinragt; deshalb wechselt ihre Zahl sowie ihre Gestalt in gewissen Grenzen. Der Darm selbst besteht aus nur 2 Reihen von Zellen, deren Grenzen bei den erwachsenen Tieren stark verwischt sind; jede Zelle enthält eine große Anzahl von Kernen. Die das Ende des Darmes umspinnenden Intestinalmuskeln sind bereits erwähnt worden. Am Uebergange des Chylusdarmes in das Rectum findet sich ein Ligamentum intestino-rectale, welches im Prinzip seines Baues durchaus dem Cephalo-oesophagealligament entspricht. Dies läßt sich am besten beim Weibchen erkennen. Das Ligament besteht hier aus zwei dicht aneinander liegenden Ringen von je 3 Zellen; die Zellen des vorderen Ringes springen als halbkugelige Gebilde nach außen vor und sind das, was von früheren Autoren als Ganglienzellen oder „Analdrüsen“ beschrieben wurde. Dicht vor dem Ligament liegt der oben erwähnte Rektalsphinkter. Denselben Bau hat das Ligament auch beim Männchen, nur ist es hier infolge der durch den Eintritt der Genitaleitungswege in das Rectum komplizierten Verhältnisse schwerer zu erkennen. Die Zellen des vorderen Ringes springen als mächtige birnförmige, an ihrem freien Ende gelegentlich gegabelte Gebilde neben dem Ende des Chylusdarmes weit nach vorn vor. Der Rektalsphinkter ist hier in seiner ventralen Hälfte in 2 Kollateralzüge gespalten, von denen der vordere den Darm allein, der hintere dagegen außer dem Darm auch den Endteil des Ductus ejaculatorius umfaßt.

Die Mündungsteile des Exkretionsapparates liegen in der sogenannten „Brücke“, welche den Porus excretorius mit den Seitenbändern verbindet. Die Brücke besteht aus drei eng aneinander liegenden Zellen, von denen die vorderste den blasenartigen Endteil des Gefäßsystems, die mittlere die Ausführungsgänge der Halsdrüsen enthält, während die dritte bindegewebiger Natur ist und das Ganze an das Bauchband befestigt. Das Verhalten der seitlichen Exkretionskanäle bietet nichts Besonderes. Die beiden „Halsdrüsen“ hängen der oben erwähnten mittleren Zelle der Brücke fest an. Ihre Körper besitzen keine Ausführungsgänge; diese beginnen vielmehr erst in der Trägerzelle der Halsdrüsen, gleichen im übrigen aber durchaus den Ausführungsgängen der Kopf- und Oesophagusdrüsen. Sie verlaufen von der Ansatzstelle der Drüsen an der Trägerzelle aus im Bogen nach den Seiten, in den Seitenbändern angekommen wieder ein Stück nach hinten, und münden schließlich in den Exkretionskanal ihrer Körperseite.

Genitalorgane. Beim Weibchen erreicht jede Genitalröhre meinen Messungen nach das 5–6-fache, der gesamte Genitaltrakt demnach das 10–12-fache der Körperlänge. Die Schlingen der Eiröhren sind zahlreich und dicht und zeigen einen vorwiegend queren Verlauf. Der Anfangsteil (d. i. der an den Eileiter sich anschließende Teil) des Uterus zeigt auf eine kurze Strecke ein hohes, sehr regelmäßiges aus

2 Längsreihen von Zellen gebildetes Epithel und beherbergt bei allen reifen Weibchen Massen von Spermatozoen; er kann deshalb als *Receptaculum seminis* bezeichnet werden, obwohl er gegen den Rest des Fruchthälters nicht scharf abgeschieden ist. Eine kompliziertere Struktur nimmt der an die kurze, unpaare Vagina anstoßende Endabschnitt jedes der beiden Uteri an, den ich nach seiner Funktion *Ovejector* nennen will. Er ist von einer dicken, aber einfachen Lage von Muskelfibrillen umgeben, die 6 Zellen angehören und in wechselnder Richtung verlaufen. Im Innern finden sich große, in eigentümlicher Weise angeordnete Zellen; auf weitere Einzelheiten kann hier nicht eingegangen werden. Der ganze *Ovejector* zerfällt in zwei histologisch und funktionell etwas abweichende Teile, von denen ich den an den Uterus anstoßenden die *Pars haustrix*, den an die Vagina anstoßenden die *Pars ejectrix* nennen will; die speziellen Funktionen beider Abschnitte dürften aus diesen Namen zu entnehmen sein.

Beim Männchen bildet der einfache Hodenschlauch ebenfalls ausgesprochen quer verlaufende Schlingen, von deren Vorderende sich jedoch ganz konstant eine Längsschleife erhebt und zwischen die Körper der beiden Halsdrüsen einschiebt. Der Hodenschlauch geht ohne scharfe Grenze in die lang spindelförmige Samenblase über, und diese setzt sich durch einen ganz kurzen, kaum gebogenen Kanal in den *Ductus ejaculatorius* fort. Dieser ist mit Ausnahme seines allervordersten Teiles umhüllt von der *Zementdrüse*, der Lieferantin jenes Sekretes, welches während der Begattung zur Befestigung des Männchens auf dem Körper des Weibchens dient. In ihrem Bau entspricht die Zementdrüse durchaus derjenigen der *Sclerostomen* und *Cylicostomen*; ihr Querschnitt ist halbkreisförmig mit abgerundeten Ecken, die ebene Seite der Rückenfläche zugekehrt. An seinem Ende geht der *Ductus ejaculatorius* in einen kurzen und engen Kanal mit chitinigen Wandungen über, der alsbald mit dem *Rectum*, d. i. dem beim Männchen ganz kurzen chitinigen Ausführungsgange des Darmes, in Verbindung tritt und damit zur Kloake wird. Der Eintrittsstelle des *Ductus ejaculatorius* gegenüber auf der Dorsalseite liegt in Gestalt eines longitudinalen Schlitzes die Oeffnung des *Spicularkanales*.

Die ca. 2 mm langen *Spicula* endigen mit haarfeiner Spitze und haben in der Nähe derselben einen ungefähr kreisförmigen Querschnitt, der gegen das verdickte, innere Ende hin allmählich in einen halbkreisförmigen übergeht, während auf den Ecken des Halbkreises zwei feine Längsfirsten sich erheben. Im Innern des Körpers ist jedes *Spiculum* von einer gewöhnlich als „Scheide“ bezeichneten Substanz umschlossen; dieselbe ist nichts anderes als der *Exsertormuskel* des betreffenden *Spiculums*. Er reicht bis zu dem etwas verbreiterten Vorderende desselben, wo er endigt, um den *Retraktormuskeln* Platz zu machen, die von hier aus — 2 für jedes *Spiculum* — frei durch die Leibeshöhle nach vorn ziehen, bis sie auf der Höhe der Samenblase zwischen den Hautmuskeln endigen. Auf der Höhe des *Rectalligamentes* tritt jedes *Spiculum* aus einem *Exsertormuskel* heraus und in einen dünnwandigen *Chitinkanal* über; beide Kanäle vereinigen sich nach kurzem Verlaufe zu einem, der seinerseits durch den oben bereits beschriebenen Längsschlitz in die Kloake einmündet. Dieser Y-förmige *Chitinkanal*, den ich, um Verwechslungen mit der *Spicular„scheide“* zu vermeiden, *Spicularkanal* genannt habe, ist äußerlich von einem *Protoplasmamantel* umhüllt, der von drei mit ihren Körpern sackartig nach außen vorspringenden Zellen gebildet wird, den *Matrixzellen* des *Spicularkanales*.

Längs der schlitzförmigen Einmündung des Spicularkanales in die Kloake ist die dorsale Wand dieser letzteren beträchtlich verdickt und in ein bis zu einem gewissen Grade selbständiges, durch seine gelbbraune Farbe sofort in die Augen fallendes Gebilde verwandelt, welches von früheren Autoren meist als „accessorisches Stück“ bezeichnet wurde. Es hat aber ganz offenbar die nicht unwichtige Funktion, die Spicula bei ihrem Hervortreten in diesem oder jenem Sinne zu dirigieren; ich habe deshalb vorgezogen, ihm den präziseren Namen *Gubernaculum spiculorum* oder kurz *Gubernaculum* zu geben. Es kann seine Richtung verändern mit Hilfe von drei paarigen, auf beiden Körperseiten symmetrisch verlaufenden Muskeln. An seinem Hinterende inserieren sich die *Musculi supinatores gubernaculi*, zwei selbständige, aus je einer Zelle bestehende Muskeln, die fast gerade nach dem Rücken aufsteigen und das Hinterende des *Gubernaculum* in dieser Richtung zu bewegen vermögen. An dem vorderen, kristenartig verbreiterten Ende des *Gubernaculum* inserieren sich einmal die *Musculi seductores gubernaculi*, zwei ebenfalls selbständige und aus je einer Zelle bestehende Faserstränge, die gerade nach den Seiten laufen und nach Durchbohrung der Seitenbänder an der Haut endigen; sie vermögen die Seitenrichtung des *Gubernaculum* zu ändern. Der *Musculus pronator gubernaculi* endlich, der ebenfalls vom Vorderende des *Gubernaculum* ausgeht, besteht zwar aus zwei gesonderten, rechts und links symmetrisch verlaufenden Faserbündeln, doch sind diese über den *Pulvillus postanal* hinweg durch einen Sarkoplasmastrang miteinander verbunden, in welchem auch der einfache Kern liegt. Die beiden Faserzüge des Pronatormuskels gehören demnach nur einer Zelle an. Sein anderes Ende liegt auf der dorsalen Kloakenwand dicht an der Anogenitalöffnung; er vermag das Vorderende des *Gubernaculum* etwas gegen die Rückenfläche zu heben.

In ihrer Eigenschaft als Hilfsorgan für die Begattung gehört auch die Bursa zu den Genitalorganen; ihre Bewegungsfähigkeit wird vermittelt durch eine Anzahl zum Teil sehr komplizierter gestalteter Muskeln. Der Funktion nach können diese in 2 Kategorien geschieden werden: Solche, welche die Bursa zu öffnen, und solche, welche sie zu schließen haben. Die ersteren verlaufen der Natur der Sache nach an der Außenwand der Bursa; es sind ihrer 5 vorhanden, ein dorsaler und jederseits zwei laterale. Den dorsalen können wir einfach *Musculus costae dorsalis* nennen, da er keinen separaten Antagonisten besitzt. Er hat die Gestalt eines Y, dessen Stamm in der Dorsalrippe gelegen ist; die beiden Schenkel des Y sind jeder nochmals gespalten, ein Sarkoplasmafortsatz des Muskels geht auf jeder Seite an die Seitenbänder. Die beiden seitlichen Muskeln der Bursa bezeichne ich als *Musculi costarum laterali* *externi*, und unterscheide unter ihnen ihrer Lage nach auf jeder Seite einen *anterior* und einen *posterior*; ihre Gestalt ist so kompliziert, daß ich hier auf die Angabe von Details verzichten muß. Als Schließer der Bursa kommen 2 Muskeln in Betracht, von denen jeder paarig ist. Eine Kontraktion der gesamten Bursa in dorsoventralem Sinne, einschließlich einer Depression der Dorsalrippe, dürften vermitteln die mächtigen *Musculi basales bursae*, die vom Boden der Bursa nach dem Rücken verlaufen. Eine Einwärtskrümmung der Seitenlappen vermittelt auf jeder Seite ein *Musculus costarum laterali* *internus*, der sich ebenfalls durch eine sehr komplizierte und in wenig Worten nicht zu beschreibende Gestalt auszeichnet.

In mittelbarer Beziehung zu der Funktion der Bursa stehen auch

die *Musculi bursales* (Schneider), insofern sie den ganzen Hinterkörper zum Zwecke der Kopulation nach dem Bauche einzukrümmen vermögen. Sie beginnen bei *Anc. duodenale* ca. 1,8 mm vor der Bursa; die beiden hintersten von ihnen nehmen, nach ihrer Insertion in unmittelbarer Nähe der Genitalöffnung zu urteilen, eine gewisse Sonderstellung ein, und vermitteln allem Anschein nach leichte Verschiebungen dieser Öffnung. Es erschien mir deshalb empfehlenswert, sie mit den besonderen Namen *Musculus ano-genitalis anterior* und *posterior* zu belegen.

Das Nervensystem des *Ankylostoma* ist recht wohlentwickelt und stimmt in den Hauptzügen seines Baues ziemlich gut mit dem der größeren *Ascariden* überein, dem einzigen, welches bisher genauer studiert worden ist. Diese Übereinstimmung tritt besonders im Vorderkörper deutlich hervor, während sich die im Schwanzende des Männchens auftretenden Strukturen mit Sicherheit noch nicht auf diejenigen der *Ascariden* zurückführen ließen, da hierzu die Kenntnis von Zwischenformen noch unbedingt nötig ist. Wo es zugänglich war, habe ich bereits gebrauchte Namen für Ganglien und Nerven beibehalten; auf der anderen Seite hat sich die Einführung einer größeren Zahl neuer Bezeichnungen nötig gemacht, wie wir im folgenden sehen werden.

Der gewöhnlich als Zentral-, i. e. Gehirnteil des Nervensystems betrachtete Nervenring liegt bei *Anc. duodenale* in dorsoventraler Richtung leicht gegen die Körperachse geneigt, d. h. auf der Rückenseite etwas weiter vorn als auf der Bauchseite. Er besteht aus einer bindegewebigen Grundsubstanz, die als Stütze für die Nervenfasern dient und mit den beiden Seidenbändern sowie dem Bauchbande, dagegen nicht mit dem Dorsalbande in Verbindung steht; diese Verbindungen werden noch durch kleine Adventitialzellen gesichert. Fünf kleine Nerven nehmen von der Kopfkommisur (*Commissura cephalica*) direkt ihren Ursprung; vier davon gehen nach vorn und endigen in den dorsalen und ventralen Kopfpapillen; es sind die dorsalen und ventralen Papillennerven. Der fünfte der erwähnten Nerven entspringt aus dem dorsalen Kulminationspunkt der Kopfkommisur und steigt gerade nach dem Rücken auf, wo er in das Dorsalband eintritt und dort sofort ein kleines Ganglion *cephalicum dorsale* bildet. Nach seinem Austritt aus diesem läuft der Nerv als *Nervus dorsalis* im Innern des Dorsalbandes nach hinten. Sämtliche übrigen Fasern der Kopfkommisur treten in das große, dem Ventralbande dicht aufliegende Ganglion *cephalicum ventrale* ein, von dem die übrigen Hauptnerven des Körpers ihren Ursprung nehmen. Eine sehr starke Kommissur steigt zunächst von dem ventralen Kopfganglion aus in den Seiten des Bauchbandes hinab bis in die *Subcuticula* und biegt innerhalb dieser quer nach den Seiten ab, um in den Lateralbändern wieder nach dem Körperinnern emporzusteigen und schließlich in die großen *Ganglia cephalica lateralia* einzutreten. Zwei ebenso starke Faserstränge verlassen das ventrale Kopfganglion schräg nach hinten zu; sie treten dabei in die Substanz des Bauchbandes ein, nähern sich einander und verschmelzen schließlich zu einem einseitlichen Nerven, der als *Nervus ventralis* im Bauchbande nach hinten weiterläuft. Jede der beiden ursprünglichen Wurzeln des Ventralnerven gibt kurz nach ihrem Eintritt in das Bauchband einen kleinen Seitenzweig ab, der sich nach vorn wendet, aber bereits nach kurzem Verlaufe endigt; ich nenne diese beiden kleinen Nerven *Nervi ventrales anteriores*.

Etwas komplizierter gestalten sich die Beziehungen der Längsnerven

zu den beiden seitlichen Kopfganglien. Nach vorn zu setzt sich jeder von ihnen in einen Nerven fort, der längs der inneren Oberfläche des Seitenbandes verläuft und schließlich in der seitlichen Kopfpapille endigt; dies sind die seitlichen Papillennerven. Verfolgt man diese Nerven von vorn nach hinten genauer, so zeigt sich, daß nicht alle ihre Fasern in die seitlichen Kopfganglien eintreten, sondern daß etwa drei von ihnen sich von den übrigen isolieren und dicht an dem Ganglion vorbeilaufen, ohne mit ihm in Verbindung zu treten. Da auch die Ganglien selbst sich nach hinten in einen ziemlich starken Nerven fortsetzen, so scheinen aus jedem Ganglion hinten 2 Nerven hervorzukommen, ein stärkerer und ein schwächerer, von denen aber nur der erstere wirklich dem Ganglion, der letztere dem seitlichen Papillennerven angehört. Von diesen beiden Nerven bildet nun der schwächere kurz hinter dem seitlichen Kopfganglion ein eigenes kleines Ganglion, das Ganglion cephalicum postlaterale, und zieht sich dann allmählich in das Innere des Seitenbandes hinein, wo er seinen Verlauf von jetzt ab in unmittelbarer Nähe des Exkretionskanales nimmt. Der stärkere Seitennerv liegt zuerst am dorsalen Rande des Seitenbandes, begibt sich aber ebenfalls bald in das Innere desselben herein; nur eine einzige Faser behält ihren ursprünglichen Platz bei und verläuft an dieser Stelle als Nervus dorsolateralis nach hinten. Der übrige Nerv zieht sich im Innern des Seitenbandes allmählich an den oben beschriebenen schwächeren heran und verschmilzt schließlich vollkommen mit ihm. Von ungefähr der Mitte des postcerebralen Oesophagusabschnittes an finden wir somit in der Nähe des Exkretionskanales einen einheitlichen Nerven, den Nervus ventrolateralis.

Die hier beschriebenen, im Umkreise des Nervenringes gelegenen Ganglien müssen meiner Ansicht nach als der zentrale, i. e. cerebrale Teil des Nervensystems betrachtet werden, und das um so mehr, als sie, außer der bereits erwähnten, noch durch eine Anzahl weiterer Kommissuren untereinander in Verbindung stehen. So zieht ein mäßig starker Nervenstrang mit einigen eingelagerten Ganglienzellen von jedem seitlichen Kopfganglion aus quer durch die Leibeshöhle nach dem ventralen Kopfganglion; ich will ihn zum Unterschiede von der unter der Haut verlaufenden Commissura cephalica ventro-lateralis cutanea die Commissura cephalica ventro-lateralis interna nennen. Eine nur aus einigen Fasern bestehende, ebenfalls frei durch die Leibeshöhle verlaufende Kommissur verbindet das ventrale mit den postlateralen Kopfganglien, die Commissura cephalica ventro-postlateralis. Schließlich mag noch erwähnt sein, daß von diesem Cerebralteile des Nervensystems aus einzelne Fasern ausgehen, welche in die Halspapillen, sowie in die Hals- und Kopfdrüsen eintreten und zur Innervierung dieser Organe dienen. Auf weitere Einzelheiten kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß im postcerebralen Teile des Körpers des Ankylostoma 6 Längsnerven vorhanden sind, 1 dorsaler, 4 laterale und 1 ventraler, letzterer von allen bei weitem der stärkste. Alle Längsnerven, mit Ausnahme des dorsolateralen, der von Anfang an nur aus einer einzigen Faser besteht, nehmen schon am Ende des Oesophagus bedeutend an Stärke ab, stehen aber, soweit ich gesehen, im Körper nicht durch Querkommissuren miteinander in Verbindung. Nur gelegentlich finden sich an einzelnen von ihnen kurze, blind endigende Seitenzweige.

Während Dorsal- und Dorsolateralnerven auf ungefähr dem Niveau des

Anus aufhören, nehmen der Ventral- und die Ventrolateralnerven im Hinterende ihre ursprüngliche Stärke wieder an. Die Verhältnisse, welche das Nervensystem des Körperendes bei Männchen und Weibchen aufweist, erscheinen auf den ersten Blick ziemlich verschieden, doch lassen sie bei genauerem Zusehen einen gemeinsamen Typus unschwer erkennen. Beim Weibchen bildet der Ventralnerv zunächst, vor der Genitalöffnung angekommen, ein kleines Ganglion vulvare, von dem aus ein kleiner Nerv zur Innervierung der muskulösen Teile des Uterus abzweigt, während der Ventralnerv selbst die Vulvarspalte auf der rechten Körperseite umgeht. Ein Stück vor dem After teilt er sich in zwei kurze, gleich starke Aeste, in deren Verlauf eine größere Anzahl von Ganglienzellen eingeschaltet sind. Im ganzen macht diese Bildung nicht den Eindruck eines kompakten Ganglions, entspricht aber ihrer Lage nach durchaus dem Ganglion anale und kann infolgedessen auch so bezeichnet werden. Hinter dem Analganglion laufen die beiden Gabeläste des Ventralnerven innerhalb der Subcuticula nach den Seiten auseinander und treten schließlich mit den Ventrolateralnerven in Verbindung. Diese erfolgt jederseits in einem kleinen Ganglion, welches ich Ganglion lumbale nennen will. Beim Weibchen ist dies die einzige Ventrolateralkommissur im Hinterende. Von den Lumbalganglien aus ziehen die Ventrolateralnerven, allmählich an Stärke abnehmend, nach hinten weiter, um schließlich in den beiden kleinen Papillen des weiblichen Schwanzendes, den Caudalpapillen, zu endigen.

Neben der eben beschriebenen Ventrolateralkommissur, die wir nach den Ganglien, die durch sie verbunden werden, *Commissura anolumbalis* nennen wollen, existiert im weiblichen Hinterende noch eine *Commissura (ventro- oder) ano-rectalis*. Sie wird repräsentiert durch einen kleinen Nerven, der, jederseits aus dem Analganglion entspringend, eine dorsale Richtung nimmt und sich mit seinem Genossen der anderen Seite zu einem kleinen Ganglion rectale vereinigt, welches median über dem Rectum im Pulvillus postanalıs gelegen ist.

Diese Nerven des Weibchens sind auch beim Männchen vorhanden, aber durch das Hinzutreten einiger weiterer Nerven nicht unwesentlich kompliziert. Zunächst mag erwähnt sein, daß die beim Weibchen in den Caudalpapillen endigenden letzten Ausläufer des Ventrolateralnerven hier in den beiden Papillen der Dorsalrippe endigen, woraus sich die Homologie der weiblichen Schwanzspitze mit der Dorsalrippe des Männchens ergeben dürfte. Das Ganglion rectale des Weibchens ist beim Männchen in zwei zerfallen, von denen das eine seine normale Lage im Pulvillus postanalıs und damit auch seinen Namen Ganglion rectale beibehält, während das zweite, kleinere Ganglion subrectale von dem Rektalganglion durch den Spicularkanal getrennt wird, der sich zwischen beide einschleibt. Die Verdoppelung des ursprünglichen Ganglions führt auch zu einer Teilung der zugehörigen Kommissur; sie entspringt noch mit einfacher Wurzel aus dem Analganglion, teilt sich aber fast sofort in zwei Stränge, die wir nach den Ganglien, die sie verbinden, *Commissura ano-rectalis* und *Commissura ano-subrectalis* nennen wollen. Die erstere besitzt in ungefähr der Mitte ihres Verlaufes jederseits noch ein kleines Ganglion cloacale eingeschaltet, von dem aus ein in den Seiten der Kloake nach hinten verlaufender Nervus cloacalis seinen Ursprung nimmt. Auch das Rektalganglion entsendet beim Männchen auf jeder Seite einen Nerven, den Nervus rectalis. Derselbe verläuft in den Seiten des Pulvillus und längs der dorsalen Kloakenwand, zieht den Rektalnerven seiner Körperseite allmählich an

sich heran und endigt schließlich mit ihm vereint in unmittelbarer Nähe der Anogenitalöffnung.

Der beim Weibchen verhältnismäßig nur schwache ventrolaterale Längsnerv ist beim Männchen wesentlich stärker entwickelt und steht mit dem Ventralnerven nicht nur 1-, sondern 2mal durch Querkommissuren in Verbindung. Die vordere dieser Ventrolateralalkommissuren entspricht, da sie von dem Analganglion ausgeht, derjenigen des Weibchens, und deshalb kann auch das Ganglion, in welchem sie auf den Seitennerven stößt, als Lumbalganglion bezeichnet werden. Hinter diesem finden sich im Verlaufe des Ventrolateralnerven beim Männchen noch zwei weitere, wohlentwickelte Ganglien; aus dem vorderen von beiden, dem Ganglion postlumbale, nimmt die zweite Ventrolateralkommissur ihren Ursprung; sie tritt auf der Ventralseite nicht in das Analganglion ein, sondern in ein kurz hinter diesem gelegenes, separates Ganglion subanale. Aus dieser Commissura subano-postlumbalis entspringen die Nerven für die präbursalen Papillen sowie diejenigen der Ventralrippen. Nach hinten entsenden die Subanalganglien je noch einen feinen Nerven, die sich alsbald vereinigen und als Nervus terminalis in der Mittellinie der Bauchseite nach hinten weiter laufen, bis sie an der Anogenitalöffnung endigen.

Das im Verlaufe des Ventrolateralnerven auf das Postlumbalganglion noch folgende dritte Ganglion, das Ganglion costale, entsendet die Nerven nach den noch übrigen Bursalrippen. Dieselben entspringen in 2 separaten Stämmen, von denen der eine die Nerven für die 3 Lateralrippen, der andere, als Fortsetzung des Ventrolateralnerven erscheinende, die Nerven für die Dorsalrippen liefert. Das Verhalten dieser Bursalnerven ist es gewesen, welches mich zu der eben vorgeschlagenen Veränderung in der Gruppierung und Benennung der Rippen veranlaßt hat.

Nachdruck verboten.

Ergebnisse betreffend die Bedeutung der Milz- und Venenpunktion bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis.

[Mitteilung aus der mediz. Klinik des Herrn Hofrat Prof. Dr. S. Purjesz in Kolozsvár.]

Von **Nikolaus Jancsó**, Dozent.

(Schluß.)

Am meisten nützte uns die Punktion bei 31, H. S. Bei ihm waren nämlich nebst dem untrüglichen Zeichen der Lungentuberkulose, das stufenweise fallende Fieber, die ungewöhnlich hochgradige Hinfälligkeit und das Aussehen der Lunge, Meteorismus, Milzvergrößerung, diejenigen Anzeichen, die den Verdacht auf Typhus lenkten; doch war die Frage wegen der gleichzeitig konstatierten Tuberkulose mit Bestimmtheit nicht zu entscheiden. Nach kurz anhaltender, beinahe fieberfreier Zeit stieg die Temperatur wieder staffelförmig in die Höhe, die Hinfälligkeit, der Meteorismus, die Milzvergrößerung, also alle jene Symptome, die sich bereits besserten, zeigen sich wieder, so daß die Frage, ob es sich nicht um ein Typhusrezidiv handle, wieder erwogen werden mußte; doch war auch eine eventuelle Miliartuberkulose um so weniger direkt von

der Hand zu weisen, da die Widalsche Reaktion wiederholt negativ ausfiel, in den Sputis Tuberkelbacillen nachweisbar waren und Hämoptoe aufgetreten war.

Die Milzpunktion bewies nun, daß zur Lungentuberkulose sich Typhus gesellt hatte, wie dies auch der weitere Verlauf und der Sektionsbefund bestätigte.

Wir führten noch in 5 auf Typhus mehr oder weniger verdächtigen Fällen die Milzpunktion aus, bei welchen der weitere Verlauf Pneumonia centralis, Endocarditis ulcerosa, Pyämie und anderes ergab. Auch in solchen Fällen ist manchmal die Punktion der Milz gut zu verwerten, da durch das Auffinden der Mikroben, z. B. Streptococcus, Staphylococcus, Pneumococcus, die Diagnose ermöglicht wird.

Wenn wir den Erfolg der bei 31 Typhusfällen vorgenommenen Milzpunktionen summieren, sehen wir daraus, das wir in der Punktion der Milz eine wichtige Methode zur Sicherung der Diagnose in mittelschweren und schweren Typhusfällen vom Ende der 1. Woche der Krankheit, bis zum vorgeschrittenen Zeitpunkte des Stad. decem. besitzen.

Bei Fällen von Typhus levis jedoch läßt uns leider auch die Milzpunktion gerade so im ungewissen, wie die übrigen bisher gekannten Symptome dieser Krankheit; und wenn man aus einem Falle etwas folgern darf, so glauben wir, daß in den ersten Tagen der Krankheit auch durch die Punktion der Milz die Diagnose nicht mit Bestimmtheit gestellt werden kann.

Wir glaubten ferner, die Wahrnehmung gemacht zu haben, daß zwischen der Zahl der aus dem Milzsaft sich entwickelnden Typhuskolonien und der Schwere der allgemeinen Symptome irgend ein Zusammenhang besteht; wir wenigstens erhielten bei den schwersten Fällen die meisten Kolonien, und überhaupt viel bei der sogenannten septikämischen Form.

Bei den meisten Kranken verursacht die Punktion keine außergewöhnlichen Symptome. In 6 Fällen konnten wir uns in mehr oder weniger Zeit nach der Punktion überzeugen, daß der durch die Nadel verursachte sehr kleine, 5 mm bis 1 cm lange und 1 mm breite Kanal gerade durch das schnelle Gerinnen des Milzblutes sich sehr schnell und ohne zu bluten, mit einem kleinen Gerinnsel verstopfte; dies organisiert sich und die Wunde heilt mit einer Narbe, so daß bei keinem dieser 6 Fälle Blut in der Bauchhöhle zu finden war. War seit der Punktion der Milz mehr Zeit verstrichen, so war die Stelle der Punktion beinahe nicht zu erkennen.

Trotz alledem halten wir die Punktion der Milz nicht für ein allgemein anwendbares diagnostisches Verfahren.

Und zwar deshalb nicht, weil, wenn auch auf die schonendste Weise ausgeführt wird, doch dieselbe gerade bei Typhuskranken, nicht als ein unbedeutender Eingriff betrachtet werden kann, und sie kann eventuell, wenn auch selten, demnach unliebsame Folgen haben. Ist es für einen Typhuskranken schon nicht indifferent, wenn er sich z. B. vom Lager erhebt, wenn er eine aufregende Nachricht erhält, oder den geringsten Diätfehler begeht, weil alldies eventuell den Eintritt der Rekrudenz oder des Rezidivs ermöglicht, so kann dies von der Punktion, mit der dabei verbundenen Aufregung, mit dem von derselben verursachten, wenn auch nicht bedeutenden, Schmerze etc. noch eher befürchtet werden, mag der an und für sich kleine Eingriff auch auf die schonendste Weise und ohne jede Komplikation ausgeführt werden. So war unter unseren Fällen bei einem, die schon sinkende Temperatur

nach der Punktion wieder angestiegen, so daß die eingetretene Rekrudeszenz ohne Zweifel durch die Punktion verursacht war. In einem Falle hatte jedoch die Milzpunktion schwere Folgen nach sich gezogen: Bei 15, Cs. D., bei dem der Exitus 5 Tage nach der Punktion eintrat, und bei dem nach der Punktion kaum ein bedeutenderes Sinken der Temperatur bemerkbar war, bei dem der Tod unter immer schwerer sich gestaltenden Symptomen eintrat, fanden wir in der Bauchhöhle eine größere Menge Blut.

Aus dem Sektionsbefund entnahmen wir folgendes: In der Bauchhöhle 500 g größtenteils flüssiges, dunkelrotes Blut. Unter dem Peritoneum der Bauchwand und in dem intermuskulären Bindegewebe sind zahlreiche hellergroße Blutungen. Die Arteria pulmonalis, wie auch die Aorta sind auffallend eng. Die Lungen sind mittelbluthaltig; auf der rückwärtigen Pleura einige punktförmige Extravasate. Die Milz ist um das Dreifache vergrößert, namentlich hat der Breiten- und Dickendurchmesser zugenommen. An der konvexen Oberfläche ist ein 10 mm langer, 2 mm breiter Substanzverlust. Oberhalb dieser Stelle ist die Milz beinahe handflächenbreit mit einer flachen häutchenartigen Blutgerinnselschicht bedeckt. Die Substanz ist sehr weich, leicht zerreißen, dunkelrot und leicht fließend, die Kapsel reißt bei der geringsten Berührung ein.

Diagnose: Typhus abdominalis in stad. partim infiltrationis, partim necrosis ilei et coli ascendentis. Punctio lienis 4 dies ante obitum facta c. haemorrhagia in cavum peritonei. Infarctus haemorrhagici pulmonis sinistri. Hypoplasia et degeneratio adiposa aortae etc.

Diese Blutung kann nach unserer Ansicht nicht auf einen technischen Fehler zurückgeführt werden; die Verwundung ist um nichts größer, als jene, die Adler bei seinen Fällen beschreibt; es waren ja Fälle, wo die Verwundung in einem einzigen 1 mm betragenden Stich bestand; auch bei anderen war derselbe selten größer als 5—8 mm lang und 1 mm breit, aus der gewöhnlich keine Blutung entsteht; ja sogar in solchen Fällen wie bei 18) D. S., wo die Milz dreimal so groß, die Hülle sehr gespannt, die Substanz außerordentlich weich, fließend war, fanden wir dennoch kein Blut in der Bauchhöhle. Auch war Cs. D. nicht unruhiger, als die anderen Patienten, so daß die Blutung damit nicht begründet werden kann, er war dauernd unter Aufsicht, und lag, den Eisbeutel länger als einen Tag an der Milzgegend, ganz ruhig.

Unserer Ansicht nach war hier die Hauptursache der Blutung die geringere Gerinnungsfähigkeit des Blutes, wie dies bei schwerem Typhus, ebenso wie bei anderen schweren Infektionskrankheiten zu beobachten ist. Wenn dieser Blutverlust im Lebenden auch keine außergewöhnlichen Symptome verursachte, und das in die Bauchhöhle geratene Blut auch keine Entzündung zur Folge hatte, und wenn andererseits auch die leichte Zerreißenbarkeit der Milzkapsel, geringe Gerinnfähigkeit des Blutes Ausnahmefälle sein mögen, so mahnt uns dieser Fall doch zur größten Vorsicht, und gerade deshalb geht unsere Ansicht dahin, daß die Punktion der Milz zur Sicherung der Diagnose des Typhus und mit der größten Vorsicht ausführbar und eventuell nur dann gestattet ist, wenn es sich um die Entscheidung der Frage, ob nicht ein Fall von Typhus exanthematicus vorliegt, handelt, und alle übrigen Wege versagen, da in diesem Falle die Sicherung der Diagnose schon wegen der Isolierung und den übrigen rigoroser auszuführenden prophylaktischen Maßregeln von großer Wichtigkeit ist.

II. In letzteren Jahren wurde eine andere, bereits in früheren Jahren versuchte, jedoch wegen der unzuverlässigen Resultate ver-

lassene Methode, den Typhus abdom. zu diagnostizieren, wieder aufgenommen: der Nachweis der Typhusbacillen im peripheren Blute.

Die Kultur der Typhusbacillen aus dem peripheren Blute gab in früheren Jahren stets Mißerfolge. E. Fränkel und Simond, Seitz, Lugatello, Jaworski, Klein, Urban u. a. versuchten diese Methode vergebens.

Jaworski hatte von 26 Typhuskranken 236mal, Urban bei 6 Typhusfällen während des stad. fastigiums täglich, später in je 2—3 Tagen, Züchtungsversuche angestellt.

Die Typhusbacillen auf diesem Wege nachzuweisen, gelang nur in vereinzelt Fällen, so daß diese Resultate einen mehr theoretischen, als praktischen Wert besaßen. Dementsprechend findet sich auch noch in den neuesten Werken über Bakteriologie und Diagnose die Behauptung, daß die bakteriologische Erforschung des Blutes die Diagnose des Typhus abdominalis kaum zu fördern im stande sei.

Seitdem jedoch Castellani mit größeren Mengen Blutes und in mehrfacher Verdünnung die betreffenden Untersuchungen auszuführen begann, waren auch die Resultate besser. Nachdem sich Castellani überzeugt hatte, daß mit geringen Mengen Blutes und Bouillon die Kultur nicht gelingt, gab er zu einer größeren Menge Bouillon 10—10 Tropfen Blut, und während so einerseits die Möglichkeit, mit Hilfe der größeren Menge Blutes die Bacillen zu finden, zunahm, konnte andererseits die bakterientötende, bezw. die entwickelungshemmende Wirkung des Blutserums sich weniger geltend machen.

So gelang es ihm, in 16 Fällen 4mal Typhusbacillen zu züchten. Sämtliche 4 Fälle waren schwere Typhusfälle, von denen 3 letal endeten.

Ebenfalls mit größerer Menge Blutes, doch auf andere Art, stellte Schottmüller seine Untersuchungen an. Er goß nämlich mit 4—4 ccm Blut Agarplatten. Auf solche Weise gelang es ihm, von 50 Typhusfällen in 40 die Typhusbacillen im peripheren Blute nachzuweisen. Detailliertere Angaben von Schottmüller stehen uns nicht zur Verfügung, da die Mitteilungen über dessen Untersuchungen mir nicht zugänglich waren. Dasselbe Verfahren verfolgten Unger und Auerbach, wobei es ihnen gelang, unter 10 Fällen 7mal Typhus in Bouillon zu kultivieren; unter den 7 Fällen war nur ein schwerer, letal endender Fall, die anderen waren mittelschwer, zum Teil leicht. Die Kultur gelang zwischen dem 12.—29. Tage. Auch Burdach gelang es, aus 4 Fällen 1mal positiven Erfolg zu erzielen. Ueber die Nützlichkeit der Methode Castellanis äußern sich noch J. Courmont und Lesseur, die, sich auf 37 Fälle stützend, das kulturelle Verfahren aus dem peripheren Blut selbst für die Frühdiagnose für geeignet halten. Wie wir sehen, gelingt der Nachweis der Bacillen im Blute viel sicherer, seitdem zur Kultur größere Mengen Blutes verwendet, und durch größere Verdünnung die bakterientötende und züchtungshemmende Eigenschaft desselben wesentlich herabgesetzt wird.

Auch wir versuchten bei Typhuskranken aus dem der Vene entnommenen Blute die Kultur der Typhusbacillen, und wollen im folgenden unsere Resultate mitteilen.

Unser Vorgehen bestand darin, daß wir nach gehöriger Desinfektion den rechten Arm komprimierten. In die angeschwollene Vena mediana wurde nun mit der Nadel eine vorerst durch Kochen sterilisierte, 5 ccm fassende Spritze eingestochen, diese mit Blut angesogen, und aus diesem Blute träufelten wir 10—30 Tropfen, eventuell noch mehr, in 300—300 ccm Bouillon enthaltende Erlensmeyer'sche Kolben. Das übrig-

gebliebene Blut fingen wir in dünne, sterile Reagenzgläser auf, welche in den Eisschrank gestellt wurden; das dort entstandene Serum wurde abgezogen, um pünktlich titriert und in verschiedener Verdünnung zur Widalschen Reaktion verwendet zu werden, welche wir mit Krålschen Typhuskulturen und mit sogenannten Eprovettekulturen ausführten.

Zur Ausführung der Versuche wurde die geimpfte Bouillon in den Thermostaten gebracht, die nach 24 Stunden sich trübenden, hängenden Tropfen untersucht. Mit denjenigen, in denen sich den Typhusbacillen ähnliche Beweglichkeit zeigende Bacillen befanden, wurde die Widalsche Reaktion in 1:100 im hängenden Tropfen, mit einem, von einem Typhuskranken stammenden, bekannten, auch in mehrtausendfacher Verdünnung agglutinierenden Serum ausgeführt. Fiel letztere allsogleich positiv aus, so gossen wir aus derselben Gelatineplatten, um die den Typhuskolonieen sich ähnlich entwickelnden Kolonieen auf ihre eventuelle Eigenschaften weiter zu prüfen. Aus derjenigen Bouillon, die sich zwar nach 24 Stunden trübte, im hängenden Tropfen jedoch nur zusammengeballte Bacillen zeigte, impften wir mit 1 Oese in 10 ccm Bouillon und stellten sie in den Thermostaten, um dieselbe nach 24 Stunden im hängenden Tropfen und auf Widal zu untersuchen. Es war nämlich öfter vorgekommen, daß, wenn das Blut, aus dem wir die Typhusbacillen züchten wollten, stark agglutinierende Eigenschaften besaß, und wir zu 300 ccm Bouillon 30—40 Tropfen gaben, die Bacillen sich wohl entwickelten, jedoch keine Bewegung zeigten, sondern sich in kleineren oder größeren Klumpen zusammenballten. Impften wir nun aus dieser Bouillon 1 Oese in andere Bouillon, so fanden wir in letzterer lebhaft sich bewegende Bacillen, mit denen auch die Widalsche Reaktion ausführbar war. Die Bouillon, die nach 24 Stunden noch nicht trübe war, stellten wir in den Thermostaten zurück, um zu beobachten, ob sie sich nicht später trübte. Denn eben durch Zugabe solch stark agglutinierenden Blutes kommt die Trübung der Bouillon später zu stande, oder die Trübung bleibt ganz aus.

Deshalb ist es besser, aus jeder Bouillon nach 2—3 Tagen 1 Oese voll in andere 10 ccm Bouillon weiterzimpfen, und diese nach 24 Stunden zu untersuchen. Aus den verdächtigen Bouillonkulturen gossen wir dann Gelatineplatten und untersuchten die auf diesen sich entwickelnden Kolonieen auf eben denselben Nährböden, die wir vorher bei der Milzpunktion beschrieben. Unsere Untersuchungen ergaben, daß die aus dem Blut sich entwickelnden Bacillen, wenn sie die den Typhusbacillen entsprechende Form und Bewegung besitzen und mit stark agglutinierendem Typhusserum im Verhältnis 1:100 sofort ausdrückliche Reaktion gaben, bei weiterem Fortzüchten sich immer als Typhusbacillen erwiesen.

Nur dann kann man von einer originalen Bouillon sagen, daß in derselben keine Typhusbacillen enthalten sind, wenn man 1 Oese von derselben in andere Bouillon einimpft und auch in dieser keine Bacillen zu finden sind.

Wenn wir mit gehöriger Sorgfalt vorgehen, ist die Verunreinigung immer vermeidbar, oder es finden sich nur unbewegliche Kokken. Außerdem fanden wir in 2 Fällen *Bac. coli comm.* Mit Hilfe der Widalschen Reaktion konnten wir diese sofort ausscheiden.

Wir hatten in 22 Fällen mit aus der Vene entnommenem Blute Untersuchungen angestellt, die wir hier erwähnen (s. Tab. p. 767 u. 768).

Von den 22 Fällen gab die Venenpunktion in 8 Fällen auf Typhusbacillen positiven Erfolg. Die Punktionen wurden in vorgeschrittenem

Serie	Name	Tag der Punktion	Adnotata	Zahl der Tropfen in 300 com Bouillon- und Resultat	Widal bei Eprovettenverfahren	Therapie unmittelbar vor der Punktion	Tag der Entfieberung nach der Punktion
1.	M. A.	10.	Bei mittelschwerem Typhus gerade bei Erscheinen der Roseolen	20— 30+ 40+	W—		9.
		17.	In vorgeschrittenem Zeitabschnitte des Stad. decrement.	20+ 30+ 40+	>25		2.
2.	B. M.	8.	Im Anfange eines Nephrotyphus, die Typhussymptome sind noch nicht merkbar. Aus dem Urin sind Typhusbacillen nicht nachweisbar	30+ 40+	>30		21.
3.	B. A.	28.	Schwerer Fall, gut ausgeprägte Typhussymptome. Nach 3 Tagen Exitus infolge v. Darmperforat. 1)	10— 20— 30—	100<		
4.	E. R.	35.	Sehr schwerer Fall mit sehr langem Fastigium. Am 39. Tage wegen Darmperforation Exitus 2)	40+ 80—	>15	1 g Chinin	
5.	T. J.	7.	Am Anfange eines leichteren Typhus, als die Typhussymptome noch fehlten	30— 40— 60—	15	2 g Aspirin	13.
		11.	Bei gut ausgeprägten Typhussymptomen	20— 40+ 80—	25		9.
6.	H. M.	20.	Bei schwerem Typhus, am Morgen nach einer Darmblutung	20— 30—	50<	Darmblutung	17.
7.	M. L.	34.	Bei mittelschwerem Typhus in Stad. decrementi	20— 30—		1 g Chinin	7.
8.	A. R.	17.	Im Anfange eines mittelschweren Typhus (re-cidive?)	20+ 30+ 30+	W+		25.
		28.	Im Alleranfange des Stad. decrementi	40+ 30+ 20—	50<		14.
9.	G. Gy.	11.	Sehr leichter Fall, die Typhussymptome sind doch ausgeprägt	10— 20— 30—	10<		9.
		14.	Im Anfange von Stad. decrementi	10— 20— 30+			6.
10.	Sz. J.	16.	Gut ausgeprägte Typhussymptome	10— 20+ 30+	50<		12.
11.	K. A.	14.	Punktion in vorgeschrittenem Zeitpunkte des Fastigium. Schwerer Typhus	10— 20+ 30+	50<	1 g Chinin kalt. Bad	
		22.	Am 30. Tage Exitus wegen Periton. perforat. 3)	10— 20+ 30+	50<		
12.	L. A.	21.	Sehr leichter Fall, schon nach 10 Tagen fieberfrei	20— 30— 50—	W—	kalt. Bad	10.
13.	M. L.	13.	Sehr leichter Typhus, schon nach 4 Tagen fieberfrei	15— 20—	W—		4.
14.	F. M.	12.	Sehr leichter Typhus, nach 3 Tagen fieberfrei	40— 80—	100<		3.
15.	G. M.	19.	Am Ende eines Typhus levis	30— 50—	25		3.
16.	A. J.	14.	Ganz am Ende von Typhus levis	20— 40— 60—	25		1.

1) Sectio: Typhus in stad. ulceration. intestini ilei et coeci.
 2) Sectio: Typhus in stad. partim ulcerationis, partim infiltrationis ilei et coeci.
 3) Sectio: Typhus in stad. ulcerationis cum perforatione.

Serie	Name	Tag der Punktion	Adnotata	Zahl der Tropfen	Widal bei Eprouvettenverfahren	Therapie unmittelbar vor der Punktion	Tag der Entfieberung nach der Punktion
				in 300 ccm Bouillon und Resultat			
17.	L. F.	6.	Am höchsten Punkte des Rezidivs eines mittelschweren Typhus	20+ 30+ 50+	50<		7.
18.	B. G.		Nach mittelschwerem Typhus leichteres Rezidiv	10— 20— 20— 30— 40—	W+ 100<		11. 6.
19.	Cs. F.		In der Mitte eines leichten Rezidivs nach mittelschwerem Typhus Am Ende der Rezidive	30— 40— 6— 10— 40—	W+ 100<		8. 3.
20.	S. S.	7.	In der Mitte des leichten Rezidivs nach leichtem Typhus	20— 50—	100<		6.
21.	K. B.	60.	Kommt am Ende eines schweren Typhus, vielleicht mit Rezidiv, das leicht ist	6— 10— 40—	1000<		10.
22.	Sz. M.	60.	Nach abgelaufenem Typhus, Bronchopneumonie. Stirbt nach einigen Tagen ¹⁾	20— 40— 60—	100<		

Zeitpunkte der Krankheit vorgenommen, da die Kranken zumeist um diese Zeit unsere Klinik aufzusuchen pflegen.

Der negative oder positive Ausfall stand nicht im Verhältnis mit der zur Bouillon gegebenen Blutmenge; es kam vor, daß wir 80 Tropfen Blut zu 300 ccm Bouillon gaben und der Erfolg negativ war, und zu gleicher Zeit aus 40 Tropfen Blut die Typhusbacillen sich entwickelten. Da in eben diesem Falle das Blutserum kaum agglutinierte (Widal kaum 25) konnten wir den negativen Erfolg nicht der entwickelungshemmenden Eigenschaft des Blutes zuschreiben, dagegen ist es wahrscheinlich, daß die Typhusbacillen im Blute nicht gleichmäßig verteilt sind, und so hängt der Erfolg, wenn die Zahl der im Blute kreisenden Bacillen nicht sehr groß ist, vielleicht auch vom Zufalle ab.

Wie aus den hier erwähnten Fällen ersichtlich, handelte es sich in der Mehrzahl um leichtere Typhusfälle, da die Endemie zur Zeit, als unsere Untersuchungen ausgeführt wurden, sich bereits ihrem Ende zuneigte. Von den 22 Fällen waren 4 Typhus levis, von den anderen 10) Sz. J., 9) G. Gy., 5) T. J. verhältnismäßig leichte Typhusfälle.

In 6 Fällen hatten wir die Untersuchung bei leichten Rezidiven ausgeführt; von diesen war bei zweien der Erfolg positiv, bei einem negativ.

In einem Falle, bei 22) Sz. M., war der Typhus schon lange abgelaufen, und nur die Widal'sche Reaktion zeigte, daß der Kranke einen Typhus überstanden hatte; dasselbe zeigte auch der Sektionsbefund, denn die typhösen Darmgeschwüre waren schon ganz geheilt.

Es waren unter den in obiger Tabelle erwähnten auch noch mehrere solche Fälle, wo die Blutentnahme in der Zeit der Deferveszenz geschah und die Kranken nach einigen Tagen fieberfrei wurden.

Alldies zusammengenommen, glauben wir sagen zu können, daß die

1) Sectio: Ulcera typhosa fere consanata intestini ilei et caeci.

Kultur der Typhusbacillen aus, durch Venenpunktion entnommenen Blut, wenn dasselbe in größerer Menge und in bedeutender Verdünnung verwendet wird, sehr bemerkenswerte Resultate ergibt, wobei dieses Vorgehen als eine recht einfache Methode der bakteriologischen Diagnose des Typhus erscheint, deren Resultate auch verlässlicher als die der sonst üblichen Methoden — mit Ausnahme der Milzpunktion — sind.

Es wäre demnach vielleicht der Ausspruch Curschmanns: daß in theoretischem Sinne die bisherigen Untersuchungen wichtige Erfolge gaben, doch gegen ihre praktische Anwendung spricht, die Schwierigkeit des Vorganges zu ändern.

Denn die Kultur aus dem der Vene entnommenen Blute ist nicht nur verlässlich, sondern auch ein einfaches, leicht ausführbares, bakteriologisches Vorgehen.

Aus unseren ersten Versuchen glaubten wir noch eine interessante Tatsache deduzieren zu können. Bei unseren ersten diesbezüglichen Untersuchungen bemerkten wir, daß die Kultur der Typhusbacillen in jenen Fällen eher gelang, wo bei der Blutentnahme die agglutinierende und paralyisierende Eigenschaft des Blutes sehr gering war. Dies schien auch plausibel, es sollte ja gerade das auffallen, daß aus einem solchen Blute, dessen Serum in mehrtausendfacher Verdünnung die Typhusbacillen agglutiniert, die Kultur der Typhusbacillen gelingt.

Die späteren Versuche bestätigten jedoch unsere Annahme nicht in vollem Maße; doch glauben wir auf Grund unserer Fälle behaupten zu können, daß in jenen Typhusfällen, in denen die Widalsche Reaktion negativ oder sehr schwach ausgeprägt war, oder in jener Periode des Verlaufes, wo die agglutinierende und züchtungshemmende Eigenschaft des Blutes, das ist im Beginne des Typhus, noch gering war, die Typhusbacillen aus dem Blute in der größeren Zahl der Fälle zu kultivieren waren.

Zwischen dem Grade der Widal-Reaktion und der Möglichkeit, die Typhusbacillen aus dem Blute zu züchten, scheint ein Gegensatz zu bestehen, was vom diagnostischen Standpunkte aus sehr wichtig ist, denn so ergänzt sich die Untersuchung des Blutes auf Typhusbacillen und auf die Widal-Reaktion gegenseitig, da wir dort, wo uns die Widal-Reaktion keinen Aufschluß gibt, mit größerer Wahrscheinlichkeit auf einen positiven Erfolg der Untersuchung des Blutes auf Typhusbacillen hoffen können.

Nachdruck verboten.

Centrifugalisation and disintegration in relation to the virus of Rabies!

By **J. O. Wakelin Barratt, M. D., B. Sc., Lond.,**
Research Student in Bacteriology, Lister Institute of Preventive Medicine, London.

With 1 figure.

(Schluß.)

The above describes the alteration in character and composition of "thin emulsion" of rabbit's brain under the influence of centrifugalisation and filtration, so far as the observations made up to the present allow. Proceeding now to consider once more the influence of centrifugalisation in respect of the virus of rabies, and, as a corollary,

the conditions in which the virus exists in the fluids subjected to centrifugalisation, the following commentary, in which the foregoing results are again summarised, may be made.

1. When an emulsion of rabid brain is centrifugalised, the virus, as already mentioned, remains in the centrifugalised liquid for some time after all visible tissue elements have been precipitated, and only when the degree of centrifugalisation is sufficiently high in respect of centrifugal force and of duration does rabies fail to be conveyed by inoculation upon rabbits. By centrifugalisation the amount of brain substance originally present in 1 in 10 pulp is, in thin emulsion, much reduced, the coagulable proteids and suspended matter together amounting to about 0,30 ‰, and the suspended matter to 0,04 ‰ to 0,10 ‰. When centrifugalisation has reached a high degree, the suspended matter is almost completely removed. The disappearance of virus proceeds *pari passu* with the removal of suspended matter. Thus centrifugalisation causes a diminution of the virus in the centrifugalised liquid, the diminution being effected by removal of the virus itself, and thus forming the complement of Högyes' method of dilution by increasing the amount of the medium in which the virus is contained.

2. Since the virus of rabies, which is present in the emulsion of rabid brain substance, is removable therefrom by centrifugalisation, it follows that the virus is particulate, a conclusion in entire agreement with the well-known fact that filtration through porcelain, which removes suspended matter, at the same time arrests the virus also.

3. It remains still to consider whether the virus of rabies resides in the visible particles of the centrifugalised emulsion or whether it exists apart from them. These visible particles are present to an apparently equal extent when healthy instead of rabid brain is used for preparing the emulsion, repeated observations made as nearly as possible under the same conditions failing to reveal any clear difference between virulent and healthy thin emulsions. From this it appears that the virus exists separately from the particles ordinarily present, either residing in the latter or lying apart from them in the fluid¹⁾.

4. The question arises, can any idea be formed from the foregoing as to the size of this particulate virus. The facts already recorded indicate that the virus is not larger while it may be smaller than the visible particles (2 μ to 0,2 μ) in the centrifugalised fluid²⁾.

1) Negri, A. Beitrag zum Studium der Aetiologie der Tollwut (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1903. p. 507—529) has recently advanced the view that the bodies, 1,5 μ to 27 μ in length, which he has discovered in the cytoplasm and processes of the nerve-cells in rabies represent the virus of this affection. — Cf. Schüder, Der Negrische Erreger der Tollwut. (Dtsche med. Wochenschr. Bd. XXIX. 1903. p. 700.)

2) The velocity with which mechanical sedimentation occurs has been determined by Barus and Schneider (Kirchhof, Math. Physik. 26. Vorlesung. § 4 [1876]) to be represented by the formula

$$x = \frac{2}{9\eta} r^2 (\rho - \rho') g$$

where x = rate of subsidence of the particle, η = viscosity of the suspending medium, ρ = specific gravity of the particle, ρ' = specific gravity of the suspending medium, r = radius of particle, and g = acceleration of gravity. But other factors besides gravitational or centrifugal force come into play in determining sedimentation. According to J. Joly, Some sedimentation experiments and theories (Sc. Trans. Roy. Dublin Soc. Vol. III. 1902. p. 391—402) the electric charge (if present) of the suspended particles and their specific inductive capacity may result in accelerating the rate of settling. In the case of rabies, however, it has not been found possible to obtain a liquid containing the virus and at the same time free from other suspended matter. Con-

5. From the fact that thin emulsion, prepared by the comparatively coarse process of pulping, which fails to break up the individual elements of the nervous tissue with any degree of thoroughness, nevertheless contains the virus of rabies in some abundance, it seems allowable to regard the virus as existing in part in the free state in the lymph contained in the tissue spaces of the affected central nervous system, for if the virus resided solely in the tissue elements it would be present in centrifuged emulsion, only in a very diluted form, and centrifugalisation might be expected to be much more effective in removing the virus than it is ¹).

The effect of disintegration upon the virus of rabies.

The mechanical breaking-up of unicellular organisms has been employed in order to liberate intracellular constituents, some of which are not otherwise capable of investigation. In special interest of the application of disintegration to the investigation of rabid brain, however, lies in the likelihood that this procedure would afford a further test of the correctness of the view commonly held, that the virus is an organised irritant, since if this is so disintegration should destroy the virus mechanically, exactly in the same way that it breaks up other organisms. It is to this problem that attention will now be directed.

In the experiments first made the brain of a rabid rabbit, weighing 10 g, was placed in the early form of disintegrator used by Macfadyen and Rowland ²), 20 g of sand and 70 c.c. of physiological salt solution being added. Disintegration was carried out for eleven hours, cooling being effected by a stream of liquid carbon dioxide. The disintegrated material, however, was found (Table 4), when subsequently inoculated upon rabbits, to retain its virulence.

Table 4, showing the result of disintegration of virulent rabbit's brain with the aid of sand.

Condition of virulent brain	Amount disintegrated	Time of disintegration	Amount of disintegrated brain substance inoculated intracerebrally	Upon rabbit	Result
fresh	10 g	11 hours	20 mgrm	1	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 10 days.
"	10 "	11 "	—	2	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 12 days.

A second series of experiments was therefore undertaken, in which much more complete disintegration was effected. For this purpose the later form of disintegrator employed by Macfadyen and Rowland was made use of. In this apparatus trituration is carried out at the

sequently no further investigation of the mode in which precipitation of the particulate virus of rabies takes place in respect of the above mentioned factors seems possible.

1) It is interesting in this connection to note that Schüder, Straßenvirus und Virus fixe (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 374) has also arrived at a similar conclusion, from the circumstance that the virus spreads in the nervous system more rapidly than would be possible if it extended only by continuity of tissue along the solid elements of the nervous system.

2) Journ. of Physiol. Vol. XXVII. 1901-02. p. 53.

temperature of liquid air¹⁾, without the use of sand or the addition of physiological salt solution. The amount of brain substance used varied from half to three grammes, and the period of disintegration from five minutes to five hours. The brains made use of were obtained from rabid animals killed by bleeding towards the close of the disease; some of the brains were fresh, others had been kept for variable periods in glycerine. As in the previous experiments (Table 4) the brains were removed with strict precautions to avoid contamination, and all apparatus used was previously sterilised. At the conclusion of disintegration the material obtained was mixed with nine parts of sterile physiological saline solution and the emulsion thus obtained inoculated intracerebrally upon rabbits²⁾. In the case of all the animals which died, the clinical diagnosis was checked by a microscopical examination of the nervous system, and intracerebral inoculation of brain substance upon rabbits was practised whenever paralytic symptoms preceded death.

The results obtained are set forth in Table 5. In the first four experiments, in which disintegration was continued for five minutes, the inoculated animals developed rabies, the period of disintegration being too short to produce any recognisable effect on the virus. In the next five experiments the duration of disintegration was prolonged to thirty or forty minutes, with the result that one animal developed rabies, while the others remained well (for periods of twenty-six to forty-four days). The next thirteen animals were inoculated with rabid brain which had been submitted to disintegration for one hour. Out of these, three died of rabies; one died on the twenty-second day without any sign of rabies; the rest remained healthy during the period they were kept under observation (thirty-one to forty-seven days). Four animals were inoculated with rabid brain which had been disintegrated for three to five hours; all remained well. It must be added that in every case in which the result of inoculation of disintegrated material was negative, the virulence of the source of material was established by inoculation, but in order to avoid introducing too many details into Table 9, these control experiments are omitted.

The above results suggest a mechanical destruction of the virus during disintegration. Before accepting this conclusion the enquiry must be made, whether the disintegrated brain contains any substance which of itself can destroy the virus of rabies. Babes³⁾ has stated that the injection of normal brain is curative against rabies, though normal mixed with virulent medulla fails to render the latter inert. Obviously before

1) An investigation by Dr. Allan Macfadyen has shown that rabid brain substance kept at the temperature of liquid air for three months does not lose its virulence. It follows therefore that mere cooling to this temperature does not render virulent brain substance inert. This conclusion also follows from those (1, 2, 3, 4, 7, 14, 20 and 22) of the experiments given in Table 5, in which rabies developed after inoculation with disintegrated material. In order to obtain still further proof on this point, rabid brain substance (of rabbit) was kept in liquid air for periods of one hour (1 exp.) and five hours (6 exps.), and a 1 in 10 brain pulp was maintained at the temperature of liquid air for one and a half hours. In every case subsequent inoculation upon rabbits was followed by rabies.

2) The microscopical characters of the particles of disintegrated brain substance are very variable in individual size and aspect, and in mode of grouping. When disintegration has been continued for about half an hour no tissue elements are recognisable. After centrifugalisation the suspended particles are similar to those in centrifugalised brain pulp already described.

3) Bemerkungen über die Beeinflussung der Hundswut durch Injektion von normaler Nervensubstanz und über Wuttoxine. (Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. p. 564—568.)

Table 5, showing the result of disintegration of virulent rabbit's brain at the temperature of liquid air.

Source of virulent brain	Amount dis-integrated	Time of disinte-gration	Amount of dis-integrated brain substance in-oculated intra-cerebrally	Upon rabbit	Result
Rabbit A, in glycerin 2 days	1 g	5 min.	2,5 mgrm	1	Rabies. Incubation period 7 days. Death at end of 11½ days.
" " " " 2 "	1 "	5 "	2,5 "	2	Rabies. Incubation period 8 days. Death at end of 11½ days.
" B, fresh 2 "	5 "	5 "	2,5 "	3	Rabies. Incubation period 9 days. Death at end of 12 days.
" " " 2 "	5 "	5 "	2,5 "	4	Rabies. Incubation period 9 days. Death at end of 12½ days.
" C, in glycer. 84 "	5 "	30 "	10,0 "	5	Remained well for 37 days.
" " " 84 "	5 "	30 "	5,0 "	6	" " " 44 "
" A, " " 2 "	1 "	40 "	— "	7	Rabies. Incubation period 7 days. Death at end of 11½ days.
" B, " " 7 "	5 "	40 "	5,0 "	8	Remained well for 35 days.
" D, fresh "	5 "	40 "	5,0 "	9	Died with typhlitis on 26th day. No sign of rabies.
" E, in glycerin 4 "	5 "	1 hour	10,0 "	10	Remained well for 45 days.
" " " 4 "	5 "	1 "	10,0 "	11	" " " 47 "
" F, " " 15 "	5 "	1 "	2,5 "	12	" " " 43 "
" " " 15 "	5 "	1 "	2,5 "	13	" " " 44 "
" G, " " 14 "	5 "	1 "	2,5 "	14	Rabies. Incubation period 9 days. Death at end of 12 days.
" " " 14 "	5 "	1 "	2,5 "	15	Remained well for 37 days.
" H, " " 24 "	5 "	1 "	5,0 "	16	Died with septicaemia on 22nd day. No sign of rabies.
" " " 24 "	5 "	1 "	2,5 "	17	Remained well for 47 days.
" B, fresh "	5 "	1 "	2,5 "	18	" " " 32 "
" " " "	5 "	1 "	5,0 "	19	" " " 32 "
" I, in glycer. 10 "	1 "	1 "	2,5 "	20	Rabies. Incubation period 7 days. Death at end of 8 days.
" J, fresh "	5 "	1 "	2,5 "	21	Remained well for 31 days.
" K, " "	5 "	1 "	— "	22	Rabies. Incubation period 7 days. Death at end of 11 days.
" E, in glycerin 4 "	5 "	3 hrs.	5,0 "	23	Remained well for 45 days.
" " " 4 "	5 "	3 "	2,5 "	24	" " " 43 "
" L, fresh "	3 "	5 "	20,0 "	25	" " " 40 "
" M, in glycer. 13 "	3 "	5 "	20,0 "	26	" " " 60 "

concluding that disintegration directly destroys the virus of rabies, it is necessary to make control experiments in order to determine if any rabicide substance is present in virulent brain. If such were present it might be expected to be after disintegration all the more effective in destroying the virus, since the effect of disintegration is to liberate intracellular juices and to cause a thorough commingling of the tissue elements. The experiments made in this direction are shown in Table 6. The third experiment remained negative; in the others no evidence is obtainable of the presence in brain substance, before or after disintegration, of rabicide material in amount sufficient to affect the value of the experiments recorded in Table 5. The same conclusion is foreshadowed by the cases of inoculation resulting in rabies shown in the latter Table (exps. 1, 2, 3, 4, 7, 14, 20, 22), though here the time allowed for the possible action of any rabicide substance was much less than in Table 6, amounting to from half to two hours.

Table 6, to determine if a rabicide substance exists in rabbit's brain, virulent or normal.

Material	How prepared	Allowed of stand for	Amount inoculated intracerebrally	Upon rabbit	Result
1 in 10 emulsion of rabid brain D disintegrated 45 min. at T of liquid air	mixed with one-fifth of its volume of 1 in 10 pulp of same rabid brains (not disintegrated)	24 hrs.	0,05c.c.	1	Rabies. Incubation period 9 days; death at end of 11½ days.
		dto.	dto.	24 „	0,05 „
as above with rabid brain B	dto.	48 „	0,05 „	3	Remained well for 34 days.
as above with healthy brain	mixed with one-fifth of its volume of 1 in 10 pulp of rabid brain A	24 „	0,2 „	4	Death on third day.
		24 „	0,3 „	5	Rabies. Incubation period 9 days; death at end of 11½ days.
as above with rabid brain J disintegrated 1 hour	mixed with one-fifth of its volume of 1 in 10 pulp of rabid brain N	24 „	0,3 „	6	Rabies. Incubation period 7 days; death at end of 8 days.
		24 „	0,3 „	7	Rabies. Incubation period 8 days; death at end of 11 days.
1 in 10 emulsion of rabid brain B (not disintegrated)	mixed with five volumes of 0,7 % NaCl solution	24 „	0,5 „	K	Rabies. Incubation period 9 days; death at end of 12 days.
1 in 10 emulsion of rabid brain D (not disintegrated)	dto.	24 „	0,5 „	J	Rabies. Incubation period 9 days; death at end of 11 days.

Since no evidence of the existence in recognisable amount of rabicide substance in the material disintegrated is forthcoming, and since nevertheless, after disintegration for half to five hours, originally virulent brain substance has been found in a number of experiments (eighteen out of twenty-two, Table 5) to fail to give rabies when inoculated intracerebrally, the conclusion appears inevitable that the process of disintegration is directly destructive of the virus of rabies. This conclusion accords with the view commonly held that the virus of rabies is organised, that is to say, is particulate and capable of mechanical destruction. No information is as yet obtainable from this investigation as to the probable size of this particulate virus, for it is not possible to say whether the mechanical injury required to cause disappearance of virulence is such as would cause actual physical destruction or whether a very slight degree of injury would be sufficient to abolish the action of the virus. But it may be observed that disintegration, as Table 5 shows, produces its effect upon rabid brain substance in a comparatively short space of time. Beyond this it is not possible to go. The occasional appearance of rabies after inoculation with disintegrated material, when trituration has been continued for half to one hour (Table 5, expts. 7, 14, 20, 22), is to be attributed to an accidental imperfection of disintegration.

It was found that in some of the experiments various symptoms

followed upon intracerebral inoculation of disintegrated brain substance in rabbits. Within a few minutes to a few hours of the inoculation, usually within twenty to forty minutes, the respiration became hurried, tremor of the muscles of the neck, chest and back occurred, sometimes excited movements or convulsions developed, in some cases persisting, in others rapidly disappearing, and occasionally paralysis of limbs, loss of coordination, stupor and coma were observed. These symptoms when slight usually passed off, when severe death not unfrequently occurred at the end of ten minutes to an hour; if recovery took place it was generally complete, but in a few animals paralysis or affection of gait persisted. The same symptoms also occurred but much less frequently when a pulped emulsion of brain substance was employed. Well centrifuged emulsion, on the other hand, produced no such symptoms. When death occurred the brain was usually found to be pale and bloodless. Numerous experiments were made to determine the mode of causation of these symptoms and it was at last established that they were due to cerebral anaemia resulting from the introduction of solid matter into the cranial cavity. They stand in no relation to the condition of the brain disintegrated, occurring both when healthy and when virulent brain is taken. They can be avoided by using a sufficiently small dose; thus the injection of 2,5 mgrm of brain substance was without effect, while 10 mgrm occasionally produced symptoms, and 30 mgrm to 50 mgrm frequently led to convulsions of ten terminating in death. There was, however, considerable difference exhibited by individual rabbits in respect of the same dose of disintegrated brain. The observations of Pagenstecher¹⁾ show that the injection of wax into the cranial cavity produces symptoms when the amount injected occupied 0,03 % to 0,17 % of the cranial content, and that death occurred when 2,9 % to 6,5 % of the cranial cavity was thus occupied. If the cranial content of the rabbit is taken at 10 cc, then the quantities of brain substance referred to above would represent approximately 0,025 %, 0,1 %, 0,3 % and 0,5 % of the cranial content respectively.

Before concluding this paper, and without entering in detail into experiments which are still in progress, reference may be made to the question whether the toxin of rabies is demonstrable in disintegrated brain substance. It has already been mentioned that no purely toxic effect was obtained by the injection of centrifuged brain emulsion, and this result is not surprising when it is considered that the quantities injected were not large, and the amounts of proteid and of suspended matter taken together were very small. When, however, disintegrated brain substance, obtained from rabbits dying of rabies after inoculation with virus fixe, was injected subcutaneously, in the form of a 1 in 10 emulsion, in rabbits and dogs in weekly amounts of 1 g, in none of the animals experimented upon did paralytic or other toxic symptoms manifest themselves during the second week, as the observations of Ferran²⁾ would lead us to suppose would be the case. In these experiments the absorption of the disintegrated brain substance was rapid, no trace remaining visible at the end of ten to fourteen days.

1) Quoted by Leonard Hill, *The Physiology and Pathology of the cerebral circulation*. London 1896. p. 158.

2) Ueber die durch Lyssaizift im Reinzustande verursachte galoppierende Vergiftung ohne Infektion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 561-562.)

Nachdruck verboten.

Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach Robert Koch¹⁾.

[Aus der Königlich bakteriologischen Untersuchungsanstalt Saarbrücken.]

Von Stabsarzt Dr. v. **Drigalski**, Leiter der Anstalt.

Mit 1 Abbildung.

Meine Herren! Vor 10 Monaten hat R. Koch über die Bekämpfung des Typhus auf Grund der durch die Typhuskommission zu Trier im Laufe von $\frac{3}{4}$ Jahren gesammelten epidemiologischen Erfahrungen selbst gesprochen. Er hat damals seinen Standpunkt etwa dahin klargelegt, daß durch rationelle Wasserversorgung und Abfallbeseitigung, wie sie größere Städte leisten können, die Typhusgefahr im allgemeinen aufgehoben wird, daß sie aber überall da bestehen bleiben muß, wo eine derartige Sicherung, insbesondere einwandfreie Fäkalienbeseitigung, schwer oder gar nicht zu erreichen ist, also vor allem auf dem Lande, wo die wirtschaftlichen Verhältnisse eine recht reichliche Berührung der Menschen mit den menschlichen Abgängen mit sich bringen. Weiterhin stellte Koch den Satz auf, daß in der Hauptsache die Uebertragung des Typhusbacillus von Mensch zu Mensch die Weiterverbreitung des Typhus bedinge, derart daß die Abgänge Infizierter unmittelbar durch Berührung, oder mittelbar durch mit ihnen verunreinigte Aborte, Geräte etc. auf gesunde Personen übertragen werden, daß man dagegen nicht erheblich mit einer Gefahr zu rechnen brauche, welche durch Bakterien heraufbeschwoen werden sollte, die etwa jahrelang in Erde, Grundwasser oder dergl. sich verborgen gehalten hätten. Diese Annahme bildete die Grundbedingung für einen praktischen Versuch der Typhuskommission im Regierungsbezirk Trier, bei welchem man sich lediglich um die Kranken und ihre Abgänge, dagegen nicht um Wasser oder Boden gekümmert hatte, und bei welchem es infolge der außerordentlichen Unterstützung der Königl. Regierung und ihre Organe gelungen war, durch bakteriologisch-diagnostische Methoden alle Infizierten, auch die ganz leicht Erkrankten oder scheinbar Gesunden, rechtzeitig herauszufinden, sie zu isolieren, bis sie nicht mehr infektiös waren, und ihre Abgänge zu desinfizieren. Der Typhus hörte in dem bearbeiteten Gebiet nach einigen Monaten ganz auf, ohne daß die Wasserversorgung und die Verwendung der Fäkalien sich irgendwie geändert hatte. Koch zieht den Schluß, daß dieser Weg, dem Ansteckungsstoff nachzugehen und ihn unschädlich zu machen, gangbar sei, da man ihn nur beim Menschen zu suchen habe. Aber er betonte ganz ausdrücklich, daß selbstverständlich die wichtigen Maßregeln der Wasser- und Abfallbesorgung nicht vernachlässigt werden würden und daß man andererseits auch einmal damit rechnen müsse, daß sich Typhusbacillen monatelang etwa in Dungstoffen halten können; ich hebe dies nochmals hervor, da ich in längerer Praxis mehrfach der Auffassung begegnet bin, als vernachlässige Koch diese Dinge. Das ist, wie aus der betr. Veröffentlichung²⁾ mehrfach hervorgeht, keineswegs der Fall. Dagegen betonte er mit Nachdruck die Bedeutung der Kontaktinfektion und die ungemein häufige Irrigkeit der vielfach land-

1) Vortrag, gehalten auf der 75. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte, Abteilung für Militär-Sanitätswesen, am 23. September 1903 zu Kassel.

2) Veröffentl. a. d. Geb. d. Mil. Sanitätswesens, 1903. Heft 21.

läufig gewordenen Annahme, es komme im allgemeinen Typhus von schlechtem Wasser.

Wenn ich heute es wage, zu dem damals von unserem Meister behandelten Thema selbständig wieder das Wort zu ergreifen, so tue ich es, weil meines Erachtens unsere Arbeiten weitere Ergebnisse bezüglich der Pathologie und der Epidemiologie des Typhus gezeitigt haben, welche für die Systematik der Erkennung und der Bekämpfung des Typhus von Bedeutung sein dürften.

Auf Kochs Anregung wurden für die Zwecke eines praktischen Vorgehens zunächst in Trier und in Saarbrücken besondere Institute errichtet, ein gleiches ferner in Metz, welches noch im Ausbau begriffen ist, neuerdings auch solche in Straßburg und Landau. Diese Institute mit einem Leiter und mehreren Assistenten, als solche den betreffenden Landesregierungen unterstellt, haben eine besondere Bewegungsfreiheit erhalten; wir sind in der Lage, jeder ärztlichen Typhusmeldung an Ort und Stelle nachzugehen, geeignete Maßnahmen unmittelbar vorzuschlagen und auch an besonders wichtigen Stellen ein selbständiges kleineres Laboratorium — Außenstation — für rasche und umfängliche Aufklärungen zu errichten.

Für das meiner Leitung unterstellte Institut in Saarbrücken lag nun in einer sehr volkreichen Industriegegend mit lebhaftem Handel und Wandel die Aufgabe vor, sich über die Lage des Typhus selbst zu orientieren und den Organen der Königl. Regierung alle die Aufklärungen zu liefern, welche ihr die praktische Bekämpfung ermöglichen konnten. Und hierzu darf ich noch einmal ein Wort von Koch¹⁾ anführen, daß wir uns nämlich nicht der Illusion hingeben sollen, in Zeit von ein paar Jahren ein großes Gebiet von Typhus freizumachen, sondern daß wir zunächst in kleinen Verhältnissen langsam vorwärts kommen und immer mehr Erfahrung für die Praxis gewinnen müssen. Wieweit wir in Saarbrücken in 10-monatlicher Tätigkeit diesem Ziele, dem einer zielbewußten Bekämpfung, näher gekommen sind, wird das Folgende erweisen; in ihm soll nur auf die in Saarbrücken gewonnenen Ergebnisse eingegangen werden, ohne diejenigen der Institute zu Trier und Metz vorwegzunehmen. Nur so viel sei über diese gesagt, daß sie in keinem Widerspruch mit den unserigen stehen, und daß die besonderen Arbeiten der Saarbrücker Anstalt dauernd durch die Beratung des Kommissionsleiters, Professors Frosch, Förderung erfahren haben. Ich darf Ihnen zunächst einige Angaben machen über die Untersuchungen im Laboratorium, über den Gang der Untersuchungen bezüglich der Verbreitungsweise des Typhus speziell auf dem Lande und gewisse Ergebnisse dabei, und mich endlich über neuere Ermittlungen bezüglich der Pathologie und Epidemiologie des Typhus und ein auf ihnen begründetes systematisches Vorgehen aussprechen.

Die Zahl der Untersuchungen im Laboratorium, welche meist von 2 Arbeitskräften erledigt werden mußten, betrug in den 10 Monaten insgesamt rund 4000, davon 3040 in dienstlichem Auftrage und 2915 auf Typhus. Typhus wurde — größtenteils in zweifelhaften Fällen! — bakteriologisch festgestellt 381mal; und zwar 306mal durch positive Serumreaktion, 75mal durch Nachweis von Typhusbakterien²⁾.

Die Blutuntersuchung wird neben derjenigen des Stuhles in den meisten Fällen geübt. Da sie ein auch für kleine Laboratorien, selbst

1) l. c.

2) Anm. b. d. Korr.: In den weiteren 4 Monaten wurden noch 112mal Typhusbacillen nachgewiesen; s. auch u.

während kürzerer Dienstreisen wohlwendbares Verfahren darstellt, darf ich mich über ihre Technik und ihren diagnostischen Wert als zu einer in bakteriologischen Kreisen ganz außerordentlich diskutierten Frage etwas ausführlicher äußern.

Die Technik bei Anstellung der Gryber-Widalschen Reaktion, welche wir regelmäßig üben, ist die von Jürgens, Conrad und mir¹⁾ und später noch einmal von Jürgens²⁾ beschriebene.

Die Blutentnahme — ein Ausdruck, der als Erwecker tatsächlich ganz falscher Vorstellungen übrigens nach Möglichkeit zu vermeiden ist — geschieht durch einen unfühlbaren Einstich mit einer gedeckten, aus ihrem Metallrohr etwa 2 mm herausragenden Lanzette³⁾ in das Ohr-läppchen; mit grobem, etwa 10 cm langen, aus dünnen Glasröhren über dem Bunsenbrenner leicht herstellbaren Kapillaren wird eine Reihe von Blutstropfen angesogen und bis zur vollständigen Gerinnung in ihr gelassen. Für Massenuntersuchungen, insbesondere auf dem Lande, ist nur diese Art der Entnahme geeignet, auch können diese mit Siegellack an beiden Enden verschlossenen Glasröhrchen leicht versendet werden. So gewinnt man mit Leichtigkeit mit Hilfe einer in $\frac{1}{100}$ ccm eingeteilten Pipette 0,03—0,05 ccm Serum und ist im stande, die Agglutinationsprobe in Verdünnung von 1:50 und 1:100 mikroskopisch anzustellen.

Wir verfahren dabei stets nach der von Kollé angegebenen Weise⁴⁾, und stellen die Probe stets mit Typhus- und Typhoid(Paratyphus-)Bacillen an; sehr zweckmäßig kann man dazu statt der großen Reagenzgläser kleine Centrifugenröhrchen von etwa 1 cm lichter Weite, welche nach unten spitz zulaufen, verwenden. Sie sind in größerer Zahl leicht transportabel und lassen den Niederschlag in ihrem konischen Unterteil sehr gut erkennen.

Unter den 1161 überhaupt angestellten Blutuntersuchungen liegen 257 Fälle mit positivem Befund vor, bei denen die Probe mit Typhus- und Typhoidbacillen genau angestellt war in den oben angegebenen Verdünnungen. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die Schlußfolgerung auf Typhus oder Paratyphus aus dem Ausfall der Probe durchaus nicht in der Weise gezogen werden kann, wie es früher verschiedene Autoren und auch wir selbst angegeben hatten. In allen 257 Fällen ist entweder direkt bakteriologisch oder durch den unmittelbaren Zusammenhang mit derart festgestelltem Typhus die Krankheit mit Sicherheit als echter Typhus abdominalis (Koch-Eberth) erwiesen worden.

Die Reaktion fiel aus:

- mit Typhoid(Paratyph.)Bac. in Verdünnung von 1:50 negativ:
nur 94mal
- mit dieser in Verdünnung 1:50 positiv, aber in Verdünnung 1:100
negativ: 35mal
- mit diesen ebenso rasch und stark wie mit Typhusbacillen
in Verdünnung 1:100: 24mal

1) Zeitschrift für Hygiene Bd. XLII. 1902.

2) Ebenda. Bd. XLIII. 1903.

3) Zu beziehen bei F. M. Lautenschläger, Berlin.

4) Als Verdünnungsflüssigkeit habe ich von jeher ausschließlich physiologische Kochsalzlösung (0,85 Proz. NaCl) benutzt. Den Vorgang der Bakterienagglutinerung und Präzipitierung fasse ich als einen etwa der Gerinnung nahestehenden, ihr verwandten auf; daß bei diesem Prozeß aber der Salzgehalt der Zusatzflüssigkeit eine erhebliche Rolle spielt, ist seit lange bekannt; derartige nicht spezifische Einflüsse müssen daher ferngehalten werden. Bouillon z. B. ist aus diesem Grunde als Aufschwemmungsflüssigkeit ganz und gar zu verwerfen.

mit diesen deutlich rascher und stärker als mit Typhusbacillen
1:100: 26mal

mit ihnen noch deutlich, aber schwächer und langsamer als
mit Typhusbacillen: 11mal.

Hervorzuheben sind ferner folgende Beobachtungen: Einmal blieb die Blutreaktion mit beiden Bakterienarten dauernd negativ, man hätte also — was nicht als absolute Unmöglichkeit hinzustellen ist — an einen dritten typhusähnlichen Erreger denken können; die Obduktion ergab indessen das Bild des typischen Darmtyphus, und aus allen Organen (aus den parenchymatösen in Reinkultur) wurden ausschließlich Koch-Eberthsche Stäbchen gezüchtet! Es handelte sich hier um einen vorgeschrittenen Krankheitsfall mit zum Teil bereits verheilten Geschwüren. In einem weiteren Fall von bakteriologisch nachgewiesenem Typhus (Koch-Eberthsche Bacillen) fiel die Reaktion mit Typhusbacillen auf der Höhe der Krankheit mehrfach in Verdünnung von 1:50 negativ, mit Typhoid (Paratyphus) Bacillen 1:100 stark positiv aus! In einem anderen blieb die Blutserumreaktion mit letzteren dauernd bedeutend stärker als mit Koch-Eberthschen Bacillen, und doch ließen sich nur die Typhusbacillen bei der Obduktion nachweisen! — Wiederholt endlich ließ sich ein außerordentlich spätes Auftreten der Agglutinationsfähigkeit (z. B. erst nach heftigen Rezidiven), die einigemal Monate zu ihrer Entwicklung brauchte, beobachten.

Es ist bekannt, daß auch bei spezifischer Fleischvergiftung, verursacht durch Gärtnerische oder diesem nahestehenden *B. enteritidis*, die Serumreaktion mit Typhusbacillen positiv ausfallen kann. Auch ich habe bei einer derartigen Massenvergiftung¹⁾, welche durch den *Bac. enteritidis* Gärtner bedingt war, mehrfach positive Serumreaktionen mit Typhus- und Typhoidbacillen in Verdünnung von 1:200 gefunden.

Ofters blieb auch die Wirksamkeit des Serums auf Typhusbakterien weit hinter der gegenüber den typhus-ähnlichen Stäbchen (Typhoid-Bac.) entfalteten zurück. So sehen wir also, daß diese angeblich spezifische Reaktion zuweilen spät, zuweilen auch gar nicht auftritt, daß sie nicht mit Sicherheit für die Diagnose einer bestimmten Typhusform (Typhus- oder Typhoid- bzw. Paratyphus) zu gebrauchen ist, und daß sie als Gruppenreaktion auch bei Infektionen gefunden wird, welche wie die Gärtnerische Enteritis ganz und gar nichts mit Typhus zu tun haben. Und wir könnten versucht sein, aus diesen Tatsachen den Schluß zu ziehen, daß das Auftreten der Gruber-Widalschen Reaktion selbst in Verdünnung des Serums von 1:100 für eine sichere und zeitige Typhusdiagnose, und somit für die Zwecke unseres praktischen Vorgehens kaum zu verwerten sei.

Nun, in der Praxis, meine Herren, liegt die Sache doch etwas anders; ziemlich häufig haben wir auch schon mit dem ersten Beginn verdächtiger Symptome, welche an sich noch keine Diagnose zulassen eine ausgesprochene Blutreaktion von 1:50; mehrfach auch schon im Anfang eine solche von 1:100. Dann lassen wir uns im ersten Falle nach 3—6 Tagen noch eine Probe zur Untersuchung kommen, die dann meist schon in viel höherer Verdünnung deutlich positiv ausfällt, im zweiten Fall genügt im Verein mit selbst nur mittelstarken klinischen Erscheinungen die Agglutinationsfähigkeit des Serums,

1) Beschrieben in der zu Ehren von R. Koch vorbereiteten Festschrift.

um für den betreffenden Fall die Diagnose zu erhärten. So nimmt uns also die Blutuntersuchung, wenn selbst nur geringere sichtbare Krankheitserscheinungen vorhanden sind — aber nur wenn solche überhaupt da sind — eine Menge weiterer Arbeit zur Stellung der Diagnose ab und ist oft recht gut zu verwerten.

Die Gefahr, daß eine Fleischvergiftung Irrtümer erzeugen könnte, ist eine ganz zu vernachlässigende. Wir haben diese sowohl als Massen- wie als Einzelerkrankung beobachtet, aber die fast immer eher an Ruhr als an Typhus erinnernden klinischen Symptome lassen von vornherein der Möglichkeit von Verwechslungen nur geringen Raum, ganz abgesehen davon, daß der etwa fälschlich ausgesprochene Typhusverdacht im Einzelfall doch nur dieselben Maßregeln — Desinfektion der Abgänge — im Gefolge hätte, die man gut tun wird, auch bei Enteritis nicht ganz zu übersehen; bei Massenvergiftungen ist von vornherein ein Irrtum so gut wie ausgeschlossen.

Wir besitzen also im Ausfall der Gruber-Widalschen Blutprobe ein sehr bedeutungsvolles Krankheitssymptom, welches wie jedes derartige Phänomen auch ganz fehlen kann; dessen Nichtvorhandensein — wie nicht genug betont werden kann — gar nichts beweist, dessen Feststellung allein uns nur ein Hinweis ist, daß der Organismus unter dem Einfluß von spezifischen Krankheitserregern gestanden hat oder noch bzw. schon steht, dessen Auftreten mit anderen Indizien zusammen — klinischen oder epidemiologischen — uns aber oft eine Diagnose erhärten kann, welche ohne dieses Hilfsmittel noch zweifelhaft bleiben würde.

Wir bedienen uns daher dieser Probe unter den gedachten Gesichtspunkten durchaus mit Nutzen. Sicher ist, daß sie nur von der Hand des Kundigen geübt werden soll, in anderer Hand möchte ich aber jedwede Arbeit, den Typhus betreffend, ganz im Gegensatz zu Herrn Chantemesse¹⁾ überhaupt nicht wissen. Aber wenn schon das Fieber als eines der wertvollsten klinischen Symptome mit Recht gelten soll, so muß man jenen Ausdruck einer immerhin spezifischen Reaktion des unter parasitäre Einflüsse gesetzten Organismus erst recht als mit Vorteil verwertbar anerkennen; mit dem Messer lassen sich diese Dinge eben nicht durchschneiden.

Der unmittelbare Nachweis der Typhusbakterien beim Menschen hat natürlich schon in diagnostischer, vor allem aber in epidemiologischer Hinsicht eine gänzlich andere Bedeutung.

Die Blutserumreaktion verhilft uns bestenfalls in sonst zweifelhaften Fällen zur Diagnose. Aber ohne deutlichere Krankheitszeichen sagt sie uns gar nichts darüber, ob die spezifische Beeinflussung des Organismus, deren Ausdruck sie darstellt, eben noch im Augenblick der Untersuchung statthat, oder ob sie nicht etwa schon Monate zurückliegt, mit einem Wort, wir erfahren sehr oft nicht: ist der Kranke noch infektiös? und niemals: wie lange ist er infektiös? Und in den gar nicht so ganz seltenen Fällen, in denen dieser wie alle klinischen Anhaltspunkte versagen, hilft uns nur die bakteriologische Untersuchung auf Bakterien. Das Verfahren ist in der Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XXXIX veröffentlicht, seine Technik soeben noch einmal von Bassenge²⁾ angegeben worden. Hierzu sei nur bemerkt, daß 3 Proz. Agar genügen,

1) Presse médicale. 16. Juli 1902.

2) D. mediz. Wochenschrift. 1903. No. 38.

Tropon oder Nutrose als Zusatz geeignet sind, und daß die genaueren Angaben über einen stets gleichmäßig und in großen Mengen herzustellenden Nährboden, sowie Bereitung einer als scharfer Indikator dienenden Lackmuslösung demnächst im Centralbl. f. Bakt. erscheinen werden. Es sei hier nur gesagt, daß wir im Saarbrücker Institut mit Hilfe einiger Vereinfachungen — Anwendung von verzinnten Kochkesseln statt der Glaskolben, eines Leinwandfilters, daß ich statt der gewöhnlichen oder des Sandfilters jetzt seit Monaten mit Vorteil benutze — im stande sind, einen guten Nährboden mit Hilfe zweier Kochscher Dampftöpfe in Mengen bis zu 14 l täglich herzustellen. Wenn wir unsere großen Platten (18–20 cm Durchmesser) richtig beschicken, sind wir — bei 2 Serien für den Stuhl — im stande, etwa 2000 Kolonien rasch voneinander zu differenzieren; und mehrfach haben die als Assistenten am Institut arbeitenden Herren eine einzige Typhus- unter so viel anderen Kolonien rasch herausgefunden.

Daß die Methode für Massenuntersuchungen nicht hinderlich ist, mag die Tatsache zeigen, daß von zwei Herren häufig etwa 40 Stuhluntersuchungen (zu je 2 Serien) und daneben noch 25 Blutuntersuchungen am Tage ohne große Beschwerde erledigt werden konnten¹⁾.

Die praktische Leistungsfähigkeit der Methode ist von R. Koch selbst derjenigen des Choleranachweises an die Seite gestellt worden, und wir könnten uns füglich mit einer derartigen Anerkennung begnügen. Aber es leuchtet dem Kenner beider Untersuchungsverfahren ohne weiteres ein, wie unendlich viel feiner ein Nachweis sein muß, bei welchem, wie durch die Cholera-Vorkultur, der gesuchte Parasit um ein Viehhundertfaches vor der endgültigen Aussaat vermehrt wird, als ein solches, das wie das unsere die Originalflora des Stuhles auf eine Platte bringt, welche nur gewisse andere Bakterien ausschließt, also um ein geringes ein relativ besseres Verhältnis in der Zahl der gesuchten zu der der sonst vorhandenen schafft. Theoretisch läßt sich jetzt leicht die Möglichkeit folgern, daß eine derartige Methode so wenig Feinheit besäße, daß sie keinen genügend exakten Nachweis lieferte, d. h. daß ein Stuhl noch immer genügend Typhuskeime für weitere Infektionen enthält, wenn dieselben infolge ihres Zurücktretens gegen die Zahl der sonstigen Bakterien nicht mehr auf unseren Platten zu erwarten sind. Aber praktisch sind wir doch zum Ziel gekommen, und das liegt an Verhältnissen, welche — früher überhaupt nicht bekannt — im folgenden noch näher berührt werden. Hier sei nur vorweggenommen, daß bei klinisch Gesunden, aber Infizierten, wie bei Rekonvaleszenten der Bakteriennachweis relativ leicht und reichlich gelingt; und vor allem zeigen die weiterhin zu besprechenden epidemiologischen Tatsachen, daß in der Tat bislang wenigstens kein Rekonvaleszent mehr Unheil angerichtet zu haben scheint, wenn er durch unsere genügend oft wiederholten bakteriologischen Untersuchungen als nicht mehr infektiös befunden war, und zwar selbst, wenn es für etwaige weitere Infektionen hinreichend günstige Gelegenheiten gab. Wir sind uns völlig klar darüber, wie nötig und erleichternd ein gutes Anreicherungsverfahren für unsere Arbeit wäre; aber unser Verfahren hat es uns, wie die Erfahrung lehrte, doch ermöglicht, diejenigen rechtzeitig und sicher genug zu erkennen, welche durch Abscheidung von Typhusbacillen den Typhus hätten weiter verbreiten können, wie sich aus dem Folgenden noch zeigen wird.

1) Ueber eine von Dr. Stühlinger und mir nach dem Muster der alten Kochschen angegebene, besonders für kleine Brutschränke leicht herstellbare Platte für Züchtung auf Agar wird noch berichtet.

Wenn ich nun auf die praktische Tätigkeit der Station zu sprechen komme, so darf ich zunächst einige Beispiele dafür anführen, wie wir im allgemeinen vorgehen, und welche Verhältnisse sich mehrfach, so daß sie als typisch für gewisse Verbreitungsweisen des Typhus gelten dürfen, dabei haben feststellen lassen. Dabei muß vorangeschickt werden, daß man für jeden Fall mit sorgfältigen Ermittlungen beginnen muß, um sich nicht etwa über die wirkliche Lage zu täuschen (s. a. u.). Bei diesem Vorgehen haben wir uns — zunächst dem Index der amtlichen Meldungen folgend — vor allem den Punkten zugewendet, welche als Mittelpunkt etwa besonderen industriellen Lebens oder als endemische Herde vorzüglich wichtig zu sein schienen.

Ersteres war bei mehreren Ortschaften der Fall, welche in der Nähe von Saarbrücken, mitten in großen Industriezentren gelegen, durch mehrere hintereinander einlaufende Meldungen auffielen. In dem einen, dem Dorfe G., wurden auf einmal Ende November v. J. 4 Typhusfälle, davon 2 als abgelaufen, gemeldet. Es war ohne weiteres anzunehmen, daß hinter diesen noch weit mehr zu finden war. Der Ort, den wir daraufhin mehrfach besuchten, ist ein großes, mit vortrefflicher, zu mehreren Laufbrunnen führender Quellwasserleitung versehenes Dorf, bewohnt von Berg- und Hüttenarbeitern. In dem als infiziert gemeldetem Hause fanden sich außer den angegebenen 4 noch 2 weitere Fälle, und es stellte sich für die Entstehung derselben folgendes heraus: Die älteste Tochter des Hauses war — unbehandelt — Ende Juni erkrankt, die anamnestischen Angaben, wie noch bestehender starker Haarausfall ließen keinen Zweifel an der typhösen Natur der Krankheit aufkommen. Zur Zeit der Erkrankung diente sie in einem anderen Hause, und es fand sich, daß hier Anfang Mai die Hausfrau unter gleichen, später ihr Kind unter leichten Erscheinungen, und wie die Serumreaktion unzweifelhaft ergab, an Typhus krank gewesen war. Seit jener Zeit war von der 9 Köpfe starken Familie ein Glied nach dem anderen erkrankt, und wir fanden im Dezember nur noch die letzten Ausläufer dieser Erkrankungen vor. Da mehrere Kinder darunter waren, lag der Verdacht nahe, daß etwa durch Vermittelung der Schule u. dergl. noch andere Kinder von der Infektion ergriffen sein möchten. In der Tat fand sich eine Reihe von Kindern, welche teils ganz ambulant, selbst ohne die Schule zu versäumen, teils mit nur geringer Schulversäumnis ihren Typhus durchgemacht hatten, und wenn man nun die Reihe der im ganzen nachgewiesenen Erkrankungen zusammenstellt (Fig. 1), so ergibt sich, daß durch ein volles halbes Jahr in diesem Ort, der nahe der Stadt gelegen und ärztlich durchaus gut versorgt ist, eine Kette von Typhuserkrankungen sich fortgesetzt hat, von denen niemand etwas ahnte; auf 5 gemeldete kamen 16 unbekannt gebliebene Fälle.

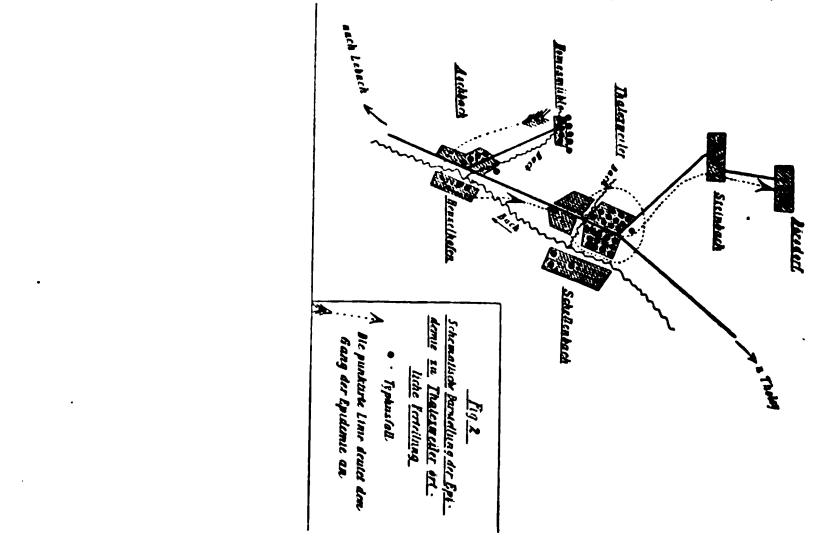
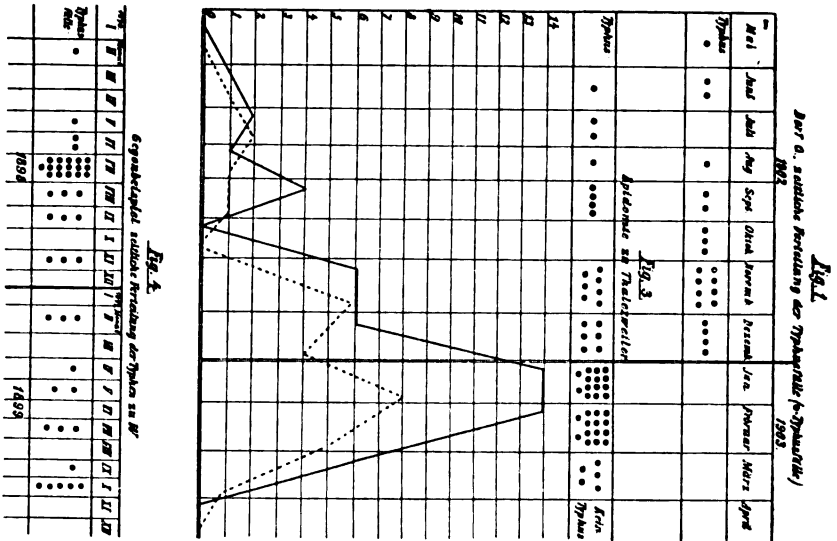
Die weiteren Maßregeln waren sehr einfache. Die Kranken waren nicht in das Krankenhaus zu bringen, man mußte also Isolierung und Desinfektion im Hause versuchen. Das durfte um so eher geschehen, als selbst durch einige etwa verstreute Keime unter den vorliegenden Verhältnissen eine Wasser- oder Milchinfektion, also eine zentrale Infektionsquelle, nicht leicht gesetzt werden konnte, und weil auch ärztliche Ueberwachung und Desinfektionskontrolle ohne größere Umstände zu ermöglichen war. Der Typhus hörte in der Tat bei diesen einfachen, aber nach aller Möglichkeit sorgfältig durchgeführten Maßnahmen auf und ist bis heute hier nicht wieder aufgetreten. Auch die G. benachbarten Orte wurden der Ueberwachung unterworfen, und die meisten als typhusfrei befunden. 3 Monate später geschah nun ganz

dicht bei dem Dorf G. in F. ein Ereignis, welches einmal dartat, daß unsere Feststellungen mindestens richtig, vielleicht auch nicht unwirksam gewesen sind, und welches ich den Anhängern der „Bodentheorie“ für Typhus zur sonderlichen Beachtung empfehle. In F. wurden die Jauche und damit die Faeces der Dungstätten sorgfältig gesammelt und in einem großen Faß auf die Aecker gefahren. Mitten und ziemlich oberflächlich durch den Acker zieht eine alte, mit der Zeit brüchig gewordene Wasserleitung, die aus dem nahen Walde das Quellwasser dem Ort zuführt. Der Jauchewagen hatte auf einmal das Unglück einzusinken, umzukippen, die gesamten Fäkalien entleerten sich in die eingebrochene Stelle und verschwanden sehr schnell. Sie kamen aber bald wieder zum Vorschein, und zwar aus den Zapfhähnen und Laufkränen der Wasserleitung, und diese Verunreinigung war so stark, daß die nicht allzu zart besaiteten Bauern und Bergleute das mit diesem Wasser angesetzte Essen fortschütten mußten. Noch später zeigte die bakteriologische Wasseruntersuchung eine enorme Vermehrung der Keime. Da auch zahlreiche Klagen über widerwärtigen Geschmack des Wassers einliefen, war endlich der Beweis gegeben, daß dieses mit Kot und Fäkalbakterien recht reichlich verunreinigte Wasser auch genossen worden war. Typhus hat aber nicht ein einziger bekommen! Das geschah, wie erwähnt, in unmittelbarer Nachbarschaft von G., 3 Monate nach dem letzten Typhusfall daselbst. Unsere Bemühungen, den Typhusbacillen in dieser Gegend nachzugehen und sie unschädlich zu machen, scheinen also nach diesem uns gelieferten Experiment im großen gelungen zu sein; es waren, wie man sieht, trotz reichlichster Einsaat von Fäkalien in das Trinkwasser keine Typhusbacillen, die es in nächster Nachbarschaft noch kurz vorher gegeben hatte, mit hineingekommen.

Ein ganz ähnliches Bild lieferte das Dorf B., ebenfalls von zahlreichen Industriearbeitern bewohnt, hier fanden wir auf 6, teilweise mit unserem Zutun gemeldete, 12 unbekannt gebliebene Fälle, von denen einige noch reichlich Typhusbacillen abschieden. Es mußte auch hier ähnlich wie in G. vorgegangen und die Isolierung und Desinfektion wenigstens zum Teil im Hause versucht werden, aber auch in diesem Fall schlossen gute Wasserversorgung, das Fehlen einer Molkerei etc. eine allgemeinere Gefahr aus, und der Typhus erlosch.

Wir haben aber auch Beispiele, bei denen wir allen Grund haben, dem Wasser seine Rolle zuzuweisen, und es ist besonders die Typhusepidemie von Thalexweiler, welche ein gutes Bild dafür darstellt, wie Kontakt- und Wasserinfektionen wirken und sich zueinander verhalten. — Ende Dezember v. J. und Anfang Januar d. J. wurden uns durch den Kreisarzt wie Herrn Knappschaftsarzt Dr. Brühl größere Mengen von Untersuchungsmaterial übersandt, das vielfach ein positives Ergebnis lieferte und uns schon im Laboratorium zeigte, daß in mehreren dicht beieinander gelegenen Ortschaften sich Typhusfälle häuften. Diese am südlichen Fuß des Hochwaldes liegenden Dörfer sind abseits vom Verkehr gelegen, auch die nächste Sekundärbahn ist noch eine Stunde und weiter entfernt. Wir begaben uns Mitte Januar zu Untersuchungen an Ort und Stelle, und es fand sich tatsächlich, daß eine umfänglichere Epidemie im Ausbruch begriffen war. Ihre Entstehung hatte mit Hilfe unserer bakteriologischen Untersuchungen Herr Kreisarzt Dr. Schmidt in durchsichtiger Weise aufgeklärt, und sie ist für sehr zahlreiche Fälle so typisch, daß versucht werden soll, den Gang der Epidemie an der Hand einiger schematischer Darstellungen anschaulich zu machen. In Fig. 2 ist der Gang und die örtliche Ausbreitung der Erkrankungen,

in Fig. 3 die zeitliche Verteilung dargestellt, und es lassen sich nun die im Januar epidemisch gehäuften Fälle auf folgende Verhältnisse zurückführen: In dem Anwesen Homesmühle lagen seit Juni 1902 Kranke, welche nicht ärztlich, sondern von einer sogenannten „wilden Pflegerin“ behandelt, demgemäß auch trotz dringender Verdachtssymptome



nicht gemeldet wurden und ganz unbekannt blieben; so lagen hier ein halbes Jahr hindurch — wie nachträgliche Untersuchungen feststellten — Typhöse, deren Entleerungen in den in der Figur angedeuteten Bach kamen. Für die Häuser von Aschbach und Henselhofen, welche weitere Fälle aufweisen, lieferte dieser Bach das Gebrauchswasser und mit ihm um die fragliche Zeit die Typhuserreger, welche nur eine sehr kurze Strecke in dem Bachwasser zurückzulegen hatten. Das waren

die nächsten Fälle. Nun übernahm der Mensch den weiteren Transport. Von Aschbach nach Thalexweiler und Steinbach führt die große, zu allen Feiertagen in dieser Richtung von der Bergbevölkerung benutzte Verkehrsstraße; dazu kommt, daß Thalexweiler als Kirchdorf mit mehreren größeren Wirtshäusern und Bedarfsläden eine Art Verkehrsmittelpunkt für diese Gegend bedeutet. Man ersieht nun schon aus der Ortsskizze, wie sich die weitaus größte Zahl der Fälle in einem bestimmten Ortsteil häufen, und zwar liegen sie hier um die beiden Brunnen herum, welche fast die alleinige Wasserstelle für die befallenen Häuser darstellten und welche sowohl ihrer Anlage nach wie durch das Vorhandensein festgestellter Erdspalten Oberflächenwässern, also groben Verunreinigungen, zugänglich waren; der eine Brunnenbesitzer gab geradezu an, daß bei jedem Regen „ihm der Mist des Nachbarn in den oben gut abgedeckten Brunnen liefe“. Bei diesem Nachbarn war aber einer der ersten Typhusfälle in dem Ortsteil aufgetreten. Es lassen also einmal die nachgewiesene Möglichkeit einer Brunneninfektion, die Gruppierung der meisten rasch sich häufenden Fälle um diese Brunnen, endlich auch der bei einmaliger bakteriologischer Untersuchung des Wassers vorgefundene starke Gehalt desselben an typischen *B. coli* mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß hier eine zentrale Infektion durch Wasser gewirkt hatte. Nachgewiesen haben wir die Typhusbacillen in dem fraglichen Wasser nicht, haben uns auch keine große Mühe damit gemacht, da jener Befund mehr theoretische als praktische Wichtigkeit gehabt hätte, hier aber vor allem anderen für praktische Bekämpfungsmaßnahmen dringend wichtig und erforderlich die Untersuchungen am Menschen wurden, nachdem die zweifelhaften Wasserentnahmestellen polizeilich geschlossen waren.

Jene Maßregeln hatten ganz erheblichen Schwierigkeiten zu begegnen. Die abgelegene Lage der betreffenden Ortschaften ist erwähnt, Krankenhäuser waren auch in der weiteren Umgebung nicht leicht zu erreichen. Andererseits mußte man ständig mit der sehr großen Gefahr noch weiterer Wasserinfektionen rechnen. Nach Schließung der Brunnen nahmen die Anwohner ihr Gebrauchs- und Trinkwasser aus dem die Landstraße kreuzenden kleinen Bache, der eben an diesem Platze durch überhängende Dunghaufen, zumal bei Regen, dauernd mit Fäkalien, und zwar auch menschlichen, verunreinigt wurde; und dicht an dieser Stelle wurde ein Typhusfall nachgewiesen! In dem gegenüberliegenden Ortsteile lagen die Dinge ebenso schlimm, 2 sumpfige, trübes Wasser haltende Wiesenlöcher, deren eines dicht an der Dorfstraße lag, und deren Umgebung, wie das Wasser selbst, durch schmutzige Fußspuren reichlichst verunreinigt war, bildeten für eine ganze Anzahl der Häuser die Wasserentnahmestellen, da sie bequemer als die guten Brunnen lagen. Nun wurde zwar sofort ein anderer Brunnen hergerichtet, auch diese „Wasserlöcher“ verschüttet, aber die Bemühungen, genügende, einwandfreie Pumpbrunnen zu errichten, hatten sehr starke, geologisch als „Akrose“ bezeichnete Geländeschwierigkeiten zu überwinden und führten bei aller Opferwilligkeit des Kreises erst später zum Ziele. Und dazu kommt die kaum besiegbare Bequemlichkeit des Landbewohners, lieber das schmutzige Wasser zu nehmen, wenn es etwas näher liegt, als der gute Brunnen; so wurden auch die zugeschütteten Wiesenlöcher mehrfach liebevoll wieder aufgegraben.

Die Königlichen Behörden, insbesondere der Herr Landrat des Kreises Ottweiler, Freiherr Laur v. Münchhofen, gingen unter den

geschilderten Verhältnissen denn auch dem Typhus weit offensiver zu Leibe, als es in den oben erwähnten Beispielen erforderlich gewesen war. Der Kreis errichtete umgehend 2 vortrefflich ausgestattete Döcker'sche Baracken, welche bereits in seinem Besitz waren, und übernahm auch zunächst alle Kosten der Verpflegung. Diesen Bemühungen, wie auch dem sehr energischen Einfluß, welchen der Knappschaftsarzt dieses Bezirkes, Herr Dr. Brühl, ausübte, ist es zu danken, daß die als infiziert, Erkrankten und die Kranken fast alle isoliert werden konnten.

Unsere besondere Aufgabe blieb nun, so rechtzeitig alle Infizierten bezw. Infektiösen herauszufinden, daß selbst bei der oben berührten, ganz außerordentlichen Gefahr, welche die zahlreichen Möglichkeiten weiterer Wasserverunreinigung mit typhusbacillenhaltigen Abgängen abgaben, weiteres Unheil verhütet und die Epidemie nach Möglichkeit abgeschnitten wurde. Außerdem machten es die Verkehrsverhältnisse sehr wahrscheinlich, daß auch über diese Dörfer hinaus der Typhus bereits verschleppt war. Die Richtigkeit dieser Annahme, wie den Erfolg der Arbeiten zeigt am kürzesten ein Blick auf Fig. 2 und 3. Um unser Ziel zu erreichen, schien es bei der Ab gelegenheit des Typhusgebietes nötig, dort einen dauernden Außenposten zu errichten, und der Aufgabe, allen beginnenden und latenten Infektionen nachzuspüren, stets im Einverständnis mit dem beamteten und behandelnden Arzte, sich auch um die entlegeneren Ortschaften zu kümmern und die sehr wichtige Vermittelung alles notwendigen Untersuchungsmateriales — es wurden ganze Häuser, um nicht zu sagen Dörfer, durchuntersucht — zu regeln, hat der zum Institut kommandierte Oberarzt, Herr Dr. Niepraschk, in schöner Weise Genüge getan.

Als idealer Erfolg mußte gefordert werden, daß vom Beginn dieses Eingreifens, Ende Januar ab, bis nach Ablauf einer höchstens 3-wöchigen Inkubationszeit der Zugang von Typhusfällen aufhörte, und höchstens noch einige, auf unmittelbarem Kontakt zu beziehende Erkrankungen nachkamen. Das ist in der Tat erreicht worden; im März ist überhaupt nur ein Haus mit einem versprengten Falle im Nachbarortsteil hinzugekommen; der befallene Ortsteil Thalexweiler ist bis heute frei geblieben. Hervorzuheben ist dabei noch, daß jener Fall in der Nähe der oben erwähnten Wasserstellen lag und ein Mädchen betraf, das mehrfach Wasser aus ihr geholt hatte, nun aber so rechtzeitig abgefangen wurde, daß es zu keiner weiteren, vor allem nicht zu der sehr leicht möglichen Wasserinfektion kam. Nicht zu verkennen war es, und zwar insbesondere im Vergleich zu anderen, nicht derart streng abgesonderten Krankheitsfällen, wie durch die Möglichkeit einer raschen Isolierung die Kontaktinfektionen eingeschränkt wurden, man ersparte dadurch geradezu weitere Kranke; nur in dem etwas entfernt gelegenen Dörsdorf, welches alle 12 - 14 Tage besucht wurde, erkrankte in gewissen Abständen ein Familienglied nach dem anderen in dem einen befallenen Hause in sozusagen staffelförmigen Abständen. Es war immer schon eine latente Infektion soeben erfolgt, wenn der Vorgänger gerade separiert wurde. Ein so merkwürdiges Beispiel von Mißerfolg haben wir sonst übrigens nicht mehr gesehen. Auf einige weitere epidemiologische Beobachtungen wird noch kurz zurückzukommen sein.

Von einer anderen Seite wurde die Frage der Notwendigkeit eines derartigen Vorgehens und speziell so eingehender bakteriologischer Untersuchungen aufgeworfen; und es wurde auf eine frühere Epidemie in demselben Kreise vom Jahre 1898 hingewiesen,

bei welcher gleichfalls rechtzeitig eine Brunneninfektion als Ursache erkannt, die Behandlung aller Erkrankten ohne strenge Isolierung in den Häusern erfolgt sei, bei der das Hilfsmittel der bakteriologischen Untersuchungen ganz gefehlt habe, und dennoch durch Schließung des angeschuldigten Brunnens die Epidemie rasch zum Stillstand gebracht worden sei.

Schon bezüglich des Waldweiler Versuches hat R. Koch und P. Frosch auf das Weitergehen des Typhus in nicht systematisch bearbeiteten Gegenden als auf die Kontrolle zu dem damaligen Versuche hingewiesen. Und als Kontrollversuch zu dem oben erörterten Verfahren sind wir jener Epidemie von 1898 etwas genauer nachgegangen; Herr Oberarzt Dr. Stühlinger ist es gelungen, durch sehr genaue Ermittlungen sie ihrem Verlaufe und ihrer Natur nach hinlänglich aufzuklären, nachdem durch Herrn Prof. Frosch nach den ersten Untersuchungen an Ort und Stelle die oben erwähnte Annahme ganz erheblich erschüttert und eine endgültige Aufklärung dieser Dinge von ihm angeordnet war. Wenn man die Fälle dieser Epidemie zu W. in die Ortsskizze einträgt, so erhält man tatsächlich den Eindruck, die zahlreichen hier im Juli und August vornehmlich in einer Häusergruppe gehäuft aufgetretenen Erkrankungen möchten zentralen Ursprungs, etwa durch Infektion eines von den meisten Anwohnern benutzten Brunnens bedingt sein. Aber es stellte sich bei genauerem Zusehen heraus, daß diese einzig in Frage kommende Wasserstelle überhaupt nicht anzuschuldigen war, denn eine noch größere Zahl ihr näher gelegener und auf sie allein angewiesener Häuser wies in diesem Jahre überhaupt keinen einzigen Fall auf! Dann konnte man immer noch an die Verunreinigung etwa eines Hausbrunnens als Ursache der gehäuften Infektionen denken; aber da fand sich, daß keiner dieser jetzt vorhandenen Hausbrunnen zu jener Zeit existierte; und als man der zeitlichen Verteilung der Fälle in den Häusern nachging, ergab sich, daß auch hier wieder in staffelförmigen Abständen von 10—14 Tagen in demselben und den eng benachbarten Häusern sich die Typhen durch typische Kontaktinfektion verbreitet hatten. Das war die Folge der häuslichen Pflege, zu welcher man damals gezwungen war!

Wenn man nun auf Grund irriger Ermittlungen eine unrichtige Maßnahme traf, konnte auch der vorausgesetzte Erfolg nicht eintreten, und er ist nicht eingetreten. Teilweise mit Hilfe der Krankenkassen- und Sterbelisten wurde festgestellt, daß keine Rede von einem Aufhören des Typhus sein konnte, daß er vielmehr ruhig in langer Reihe von Erkrankungen weiter gegangen war, wie Fig. 4 zeigt. Ich brauche nur auf die graphische Nebeneinanderstellung (Fig. 3 und 4) zu verweisen, um klarzulegen, wie ganz unbedingt nötig erst einmal richtige Ermittlungen als Grundlage richtiger und wirksamer Maßnahmen sind. Und doch handelten die sanitätspolizeilichen Organe damals genau nach den herrschenden Vorstellungen, ein Massenaufreten des Typhus hänge stets mit Wasserinfektionen zusammen, und die Ansteckungsgefahr sei nicht sehr erheblich; und statt einen Vorwurf zu erheben, wollen wir daran denken, daß seit jener Zeit sich eben ein nicht geringer Wechsel der Anschauungen vollzogen hat.

Auf weitere Einzelheiten der Typhusverbreitung brauche ich bis auf eine gleich zu erörternde Besonderheit nicht einzugehen, da die oben erwähnten Beispiele als typisch gelten können; ich will nur hervorheben, daß wir in Orten, die mir als infiziert bekannt geworden waren, insbesondere immer wieder auf das langsame, zuweilen auch schnellere

Fortkriechen des Typhus von Person zu Person gestoßen sind; oft war diese Kontaktkette im Anschluß an einen eingeschleppten Fall erst eine kurze, und der Typhus mit Erkennung der Fälle bald beendet. Aber in einzelnen Fällen kamen wir nicht so zum Ziel.

In bestimmten Häusern trat der Typhus immer wieder auf, obwohl auch hier die Aerzte sich bemühten und es tatsächlich meist erreichten, daß die Kranken in das Hospital gebracht wurden. Kurz, es ließ sich auch von uns das Vorhandensein von „Typhushäusern“ feststellen, welches man übrigens schon früher kannte.

Diese Verhältnisse darf ich speziell für Saarbrücken etwas näher berühren und begehe dabei wohl kaum eine Indiskretion, da ja selbst in der Tagespresse von Typhus oder „Typhusepidemie in Saarbrücken“ reichlich die Rede war: Es war erst nicht ganz leicht, über die obwaltenden Verhältnisse ins klare zu kommen; in der Tat kommt hier Typhus jahraus jahrein, seit recht geraumer Zeit das ganze Jahr hindurch vor und wird als Kalamität in allen Ständen schwer empfunden. Eine ganze Reihe von Umständen waren in Betracht zu ziehen, welche das vermitteln konnten, vor allem die Wasser-, Milch- und sonstige Nahrungsmittelversorgung.

Da konnte nun von vornherein das Wasser als Ursache wieder gänzlich ausgeschlossen werden. Wenn man die festgestellten Fälle der letzten 4 Jahre in den Ortsplan einträgt, sieht man, daß ganz vorzüglich ein begrenztes Viertel, die Altstadt, befallen bleibt, und die übrigen Erkrankungen sich als versprengte Fälle — auch meist wieder mehrere als Kontaktinfektionen in einem Hause — über die übrige Stadt verteilen; und es treten die Infektionen niemals mit explosiver Heftigkeit, wie es eine Wasserinfektion zur Folge haben mußte, auf, sondern sie verteilen sich über längere Zeiträume.

Die Wasserversorgung von Saarbrücken selbst ist hygienisch als eine der besten zu bezeichnen, die sich finden läßt. Die Wassersammelstellen befinden sich abseits vom Verkehr in waldigem Gelände, und die Brunnen und Sammelstollen stehen so tief in Sandsteinfelsen, ihre Zugänge sind so sicher verwahrt, daß Oberflächenzuflüsse nach menschlichem Ermessen ausgeschlossen sind. Es wäre einer jeden Stadt eine so einwandfreie Wasserleitung zu wünschen. Ist so auf jede Weise eine zentrale Infektion auszuschließen, so hätte noch an eine durch unglückliche Zufälle etwa periodisch eintretende Strangverunreinigung gedacht werden können; auch das ließ sich an der Hand der Karte gänzlich ausschließen.

Wir sehen also, daß eine aufs beste mit Wasser versorgte und größtenteils kanalisierte Stadt, die auch bezüglich ihrer allgemeinen Sauberkeit zum mindesten nicht hinter recht vielen anderen Gemeinden zurücksteht, ihren Typhus behält. Also mußten wir an andere Uebertragungsmöglichkeiten, vor allem durch die Milch, denken¹⁾.

Die Milchversorgung ist allerdings zur Zeit recht primitiv zu nennen; vielfach in kleinen Hand- und Hundewagen kommt die Milch aus zahlreichen Dörfern, auch Lothringens, welche hygienisch auf der Liste der „Verdächtigen“ stehen. Auch der Handel mit dem ungekocht genießbaren Gemüse war in Betracht zu ziehen, das aus ähnlichen Gegenden auf den Markt kommt und das um so mehr zu berücksichtigen schien,

1) Vergl. hierzu die neueste Arbeit von Bassenge aus dem Laboratorium von Dönitz, l. c.; ferner Behla, Klin. Jahrb. Bd. X. 1902.

als die Landleute dort vielfach die unleidliche Gewohnheit haben, ihre Salate etc. kurz vor dem Pflücken mit Jauche zu begießen, um sie „recht frisch“ zu machen. Es fand sich aber, daß ein regelmäßiger Zusammenhang zwischen diesen Dingen und den behafteten Häusern ganz und gar zu vermissen war. Auch die vielfache Berührung, in die die Bevölkerung mit auswärtigen Elementen infolge des sehr lebhaften Schiffahrt- und Handelsverkehrs kommt, konnte nicht wesentlich in Betracht kommen; es sind gar nicht diese Bevölkerungsschichten, welche sich erheblich an den Typhuserkrankungen beteiligen. Und wenn man an der Hand der graphischen Darstellungen sieht, wie immer wieder dieselben Häuser alljährlich ihren Typhus haben, und in Erwägung zieht, daß diese gerade die hygienisch ungünstigsten, stark überlegten Wohnungen enthalten, mit Höfen, welche durchweg sehr eng, vielen Parteien und Häusern gemeinsam und demgemäß natürlich leicht recht unsauber sind, mit Abortanlagen, die sich über alten Senkgruben befinden, so kann man in der Tat leicht wieder zu der Vorstellung von der Wichtigkeit einer „Bodenverseuchung“, der Boden- und Grundwassertheorie für die Entstehung des Typhus, mit anderen Worten von der Bedeutung einer Dauerexistenz der Typhuskeime außerhalb des Menschen kommen. — Weitere Aufklärungen und ein weiteres praktisches Vorgehen mit zur Zeit erschwingbaren Mitteln hielte ich dann für mindestens ganz enorm erschwert. Es wird sich aber aus dem folgenden bald ergeben, daß hier ganz andere Verhältnisse, **die nichts mit Boden oder Grundwasser zu tun haben**, eine entscheidende ursächliche Rolle spielen.

Für unser weiteres Vorgehen sind die Ermittlungen und Beobachtungen, die wir bezüglich der Pathologie wie der Epidemiologie des Typhus gemacht haben, die Voraussetzung; da auch noch ein Teil der neuesten Lehrbücher, welche Autorität genießen, auf diesem Gebiete lückenhafte und, wie ohne Zögern gesagt werden darf, teilweise irrige Anschauungen enthalten, müssen jene Feststellungen hier gedrängt wiedergegeben werden.

Ueber die Verbreitung der Krankheitserreger im Organismus ist bereits bekannt, daß man sie in der Leiche in den meisten Organen gefunden hat; und die kulturellen Untersuchungen des Blutes, wie sie Schottmüller vielfach geübt hat, weisen des weiteren darauf hin, daß die typhöse Infektion sich nicht etwa auf das Darmrohr und die enger mit ihm zusammenhängenden parenchymatösen Organe beschränkt, wie ja auch als bevorzugte Fundstelle am Gestorbenen bisher die Milz angesehen wurde. Ich habe nun Gelegenheit gehabt, auf Anregung und Veranlassung von Professor Frosch, und nachdem Jürgens bereits die Bakterienverteilung im Darme studiert hatte, eine Reihe von Sektionen kurze Zeit post mortem bei Personen zu machen, welche in verschiedenen Stadien verstorben waren, in dem der beginnenden Geschwürsbildung, auf der Höhe der Krankheit mit ausgedehnten Ulcerationen und endlich einige, welche nach völlig abgelaufenem Darmtyphus an Komplikationen oder selbst an Zufällen zu Grunde gegangen waren, die mit dem Typhus überhaupt nicht zusammenhingen. Dabei ließen sich eigentümliche Befunde erheben, welche meines Wissens noch nicht ganz allgemein bekannt sind.

Die bakteriologische Untersuchung des Darmrohres derart vorgenommen, daß die einzelnen in situ abgebundenen Teilstücke mit steriler Kochsalzlösung abgospült und so von dem der Schleimhaut anhaftenden Inhalt befreit wurden, ergab bei Aussaat oberflächlich von

der Schleimhaut abgestrichener Oesen sehr konstant folgendes: Aussaat von den unteren Abschnitten des Rectum ließ öfters überhaupt keine Typhuskolonien aufgehen, aber je weiter man nach oben kam, desto reichlicher wurden sie, so daß Abstriche von der oft völlig normal aussehenden Schleimhaut des Duodenum, oft auch schon die des oberen Jejunum Reinkulturen massenhafter Typhuskolonien ergaben. Mehrfach traten Typhuskeime in den unteren Teilen erst im Coecum und im Processus, zuweilen aber auch hier noch nicht auf; und ganz schwer war es mehrfach, von dem Geschwürsgrunde auch nur vereinzelte Kolonien von Typhus zu erhalten, während die umgebende gesundscheinende Schleimhaut solche schon massenhaft lieferte. Ich fand also bezüglich des Darmes in Uebereinstimmung mit Jürgens im Rectum hinauf bis zum Coecum spärlich oder gar nicht, im unteren Ileum mäßig viel, im oberen Ileum reichlich, im Jejunum sehr reichlich, im oberen Duodenum stets Reinkulturen von *B. typhi*. Ganz auffallend war das konstante reichliche Wachstum von Typhusbacillen bei Aussaat von der Schleimhaut des Magens — ein meines Wissens überhaupt bisher noch nicht erhobener Befund! — mit deutlich sauer reagierendem Inhalt, und ebenso fanden sie sich stets in der ganzen Speiseröhre, und selbst von dem einfachen Abstrich des Zungenbelages, ferner auch von dem Durchschnitt der Tonsillen gelang es, unter fast unzähligen saprophytischen mehrere Typhuskeime zu isolieren. Mesenterialdrüsen und alle parenchymatösen Organe lieferten stets massenhafte Typhusbacillen; bemerkenswert ist ihr regelmäßiges und — wie ein Fall mit Gallenfistel erkennen ließ — vorläufig unbestimmbar lange dauerndes Vorkommen in Reinkultur in völlig klarer Galle.

Anmerkung: Auch ist auffällig, wie sowohl in Menschen- wie in Ochsen- galle die Typhusbacillen zwar langsam, aber stetig und besser als die meisten anderen (z. B. *B. coli*) wuchern, so daß man sie selbst bei Einsaat von Bakteriengemischen nach einmaliger Einimpfung noch wochenlang findet. Besondere Untersuchungen über diesen Gegenstand sind im Gange.

Auch alle anderen Organe enthalten regelmäßig ziemlich reichlich Typhusbacillen, wenn es sich um frischere Krankheitsfälle handelt; so — bei aseptischer Isolierung aus tiefen Innenschichten! — die quergestreifte Muskulatur, der Muskel des Herzens, der Uterus, in einem Falle die sorgfältig abgespülte Placentarstelle des schwangeren Uterus. In den wenigsten Fällen endlich wurden sie bei Abstrichen aus allen Teilen der Lunge vermißt, auch wenn diese nicht pneumonisch infiltriert war, mehrfach von der Luftröhrenschleimhaut isoliert¹⁾.

An allen diesen Stellen wurden die Erreger, wie gesagt, meist sehr reichlich gefunden; nur in einem Falle, bei dem die Darmläsionen fast verheilt waren, der aber unter schwersten Vergiftungserscheinungen zum Ende geführt hatte, wuchsen sie selbst aus der Milzaussaat verhältnismäßig spärlich, und in einem anderen, der unter den Erscheinungen schwerer Pyämie mit zahlreichen Gelenkmetastasen zum Tode führte, war trotz reichlichster wiederholter Aussaat von der Milz nicht eine Kolonie mehr zu gewinnen; dabei waren aus Stuhl und später auch aus dem Harn stets zahlreiche Typhusbacillen isoliert worden, und zwar noch kurz vor dem Tode²⁾.

1) Genauere Angaben erfolgen an anderer Stelle.

2) Der Gelenkeiter kam leider nicht zur Untersuchung; die Darmgeschwüre waren vollständig verheilt!

Wir haben es also bei der Typhusinfektion mit einer Bakteriämie zu tun, die sehr wahrscheinlich meist ihren Ausgang vom Darmrohr nimmt, und bei der es nicht wunder nehmen kann, wenn die verschiedensten Se- und Exkrete die Erreger enthalten, wie wir sie wiederholt außer im Urin auch im Lungenauswurf nachgewiesen haben. Praktisch ist das für die Ansteckungsfähigkeit nicht ganz unwichtig.

Es erhellt aber auch ferner, wie für die weitere Entwicklung der Krankheit, je nach dem rascheren oder langsameren Einbruch der Typhuskeime in Organe, welche einerseits lebenswichtig sind, andererseits nicht die gleiche Bedeutung für die reaktive Immunisierung des Organismus (vergl. Ehrlich) haben, diese Verhältnisse die mannigfachste Wirkung zeitigen können. Aus dieser Anschauung heraus ist ohne weiteres klar, wie das Darmrohr wohl der bevorzugte Sitz der pathologischen Veränderungen sein kann, aber nicht zu sein braucht; und bei unseren Untersuchungen sind wir auf ganz zahlreiche derartige Fälle gestoßen, welche zu den pathologisch-anatomischen Feststellungen die epidemiologisch bedeutsamen klinischen Ergänzungen darstellen. Den ungemein häufigen Beginn des Typhus mit Symptomen von seiten der Rachenorgane aus — Angina — will ich nur streifen; wir sahen sie in ca. 40 Proz., viele Praktiker bestätigen uns das. Aber besonders bei Kindern verlief öfters die akute Krankheit vornehmlich unter dem Bilde einer Angina und Bronchitis oder Bronchiopneumonie; oft wird sie, auch bei Erwachsenen, als Influenza gedeutet und behandelt. Ferner konnten wir Fälle von Perityphlitis, Gallensteinkolik (1 Fall), Otitis media recidiv. (1 Fall), Cholecystitis durch Nachweis der Typhusbacillen im Stuhl (bezw. Galle) als typhöse Infektionen aufklären. Des weiteren sehen wir, wie besonders bei Kindern die bisherige Annahme von Prodromen, welche sich allmählich entwickeln, oft ganz und gar nicht zu Recht besteht; vom Fehlen jeglicher Erscheinungen bis zum Auftreten schwerer typhöser Symptome bedurfte es öfters nur eines Zeitraumes von 2—3 Tagen.

Wiederholt sind wir auch auf überhaupt nicht klinisch Erkrankte in der Umgebung Infizierter gestoßen, die Typhusbacillen abschieden und mehrfach erst spät eine positive Serumreaktion aufwiesen.

Hält man endlich diese Tatsachen zusammen, berücksichtigt man vorzüglich, daß bei Berechnung der früheren Epidemien wohl meistens eine gewisse Zahl der leichten, ambulanten und larvierten Fälle fortfiel, so kommt man zu einer ganz anderen Annahme bezüglich der Typhusmortalität, welche zur Zeit noch auf wenigstens 10 Proz. angegeben wird. In Waldweiler haben wir von rund 70 Fällen keinen, in Thalweiler von über 50 Fällen einen verloren; aber es wäre falsch, hieraus einen unmittelbaren Schluß zu ziehen und verallgemeinern zu wollen, denn die sofortige Unterbringung im Krankenhause, die strenge Beobachtung einer fast absoluten Milchdiät¹⁾ verbessert die Prognose für den Verlauf solcher Erkrankungen bedeutend. Indessen wäre auch die Annahme falsch, wir hätten es hier mit einem „besonders leichten Typhus“ zu tun, im Gegenteil tritt er in einer größeren Zahl der Fälle so schwer wie denkbar auf. Wir möchten die durchschnittliche Mortalität bei Typhus bzw. Typhusinfektion daher auf etwa 5 Proz., aber sicher nicht höher, eher etwas niedriger veranschlagen, und diese Beobachtung kann einige Bedeutung für die richtige Einschätzung der vorhandenen Gesamterkrankungen gewinnen, wenn man

1) Auch vornehmlich von Herrn Dr. Brühl-Lebach beobachtet.

aus einer Gegend von Typhus mit einer bestimmten Zahl von Todesfällen erfährt.

Das ist also das eine wichtige Moment für unser Vorgehen: Wir können uns in keiner Weise auf die klinischen Erscheinungen allein verlassen und müssen ganz und gar bei der Bewertung der Infektion von dem bisher angenommenen, nur für einen Teil der ausgeprägten Fälle gültigen klinischen Schema abgehen. Es wäre ja auch geradezu wunderbar, wenn nach den obenerwähnten Feststellungen es nicht möglich sein sollte, daß auch schwer virulente Keime einmal an Stellen, die geringe vitale, aber große immunisatorische Bedeutung haben, so lange zurückgehalten werden, daß bei weiterer Verbreitung entweder schon Giftimmunität besteht: Infektion gesund Bleibender — oder nur noch geringere Erscheinungen auftreten, die mit schwerem Typhus klinisch nichts mehr zu tun haben. Nun wird der klinisch denkende Arzt bedenklich einwenden, daß wir dann alles oder nichts mehr für Typhus halten, daß wir gar nicht mehr wissen können, wo überall Typhusverdacht auszusprechen sei. Aber ganz so schlimm steht es nicht.

Einmal handelt es sich vorzüglich um die Umgebung eines Typhösen, diese untersuchen wir nach den gemachten Erfahrungen doch genau durch¹⁾. Außerdem dürfen wir sagen, daß diejenigen Herren von der Praxis, mit welchen zu arbeiten wir den Vorzug haben, einen ganz anderen Blick für Typhus sich angeeignet haben, als er wohl gewöhnlich vorhanden ist. Sie haben sehr rasch den Grundsatz angenommen: Wo irgend etwas zweifelhaft scheint, wird auf Typhus untersucht; und für uns wieder ist jeder Fall so lange verdächtig, bis er nach der einen oder der anderen Richtung hin aufgeklärt ist. Ich führe nur das Beispiel des Falles von Rezidiv einer Mittelohrentzündung an: Das für den bestehenden lokalen Prozeß etwas hohe Fieber war dem behandelnden Arzte Anlaß, sofort die Abgänge untersuchen zu lassen; wir fanden im Stuhle Typhusbacillen (in sehr geringer Menge), der Kliniker²⁾ etwas später leichte Milzschwellung, während alle sonstigen „typhösen“ Erscheinungen ausblieben und auch die Temperatur rasch wieder abfiel.

Wie wichtig auch für die Weiterverbreitung des Typhus solche larvierten, unerkannten Fälle sein mögen, so fand sich doch bei den systematischen Untersuchungen Erkrankter noch einiges, das meines Erachtens größte Bedeutung für jene besitzt.

Diese auf Faeces und Urin sich erstreckenden Züchtungen hatten einmal das Ergebnis, daß auch in völlig klarem Urin Typhusbacillen sehr reichlich enthalten sein können, ein Befund, der von Prof. Frosch und Dr. Conradi bestätigt wird. Dann haben wir bei 64 Fällen mit Bakteriennachweis im Stuhle den Tag der Erkrankung genau bestimmen können, und es ließ sich nun für das Stadium der Krankheit, in dem der positive Befund erhoben wurde, folgendes dartun:

Typhusbacillen fanden sich:

in den ersten 5 Tagen	10mal = 15,6 Proz.
vom 6.—10. Tage	15 „ = 23,4 „
„ 11.—20. „	21 „ = 33,0 „
„ 21.—27. „	8 „ = 11,5 „

1) Es ist schon erwähnt, daß solche Massenuntersuchungen technisch nicht auf Schwierigkeiten stoßen.

2) Dr. Mertz-Saarbrücken.

nach 8—10 Wochen 7mal = 11,0 Proz.

„ 3 Monaten und später 3 „ = 4,7 „

Man findet, wenn man überhaupt Gelegenheit dazu hat, oft die Typhusbacillen schon in den ersten Stadien, also sehr früh, sie zeigten sich mehrmals schon am 2. und 3. Krankheitstage; auf der Höhe der Krankheit haben wir öfters trotz zahlreicher Wiederholungen keine Bakterien gezüchtet, dagegen in der späten Rekonvaleszenz auffällig oft, fast in $\frac{1}{6}$ unserer Fälle, und in ganz beträchtlich reichlicher Menge, mehrfach wochenlang in Reinkultur. Die längste Zeit, während welcher sie im Stuhle beobachtet wurden, beträgt bis jetzt in einem seiner Dauer nach bekannten Falle 14 Wochen¹⁾!

Diese Tatsachen stehen in engem Zusammenhange mit dem Bestehen endemischer Herde und sogenannter Typhushäuser. Prof. Frosch hatte die besondere Aufgabe gestellt, den Typhus in ihnen aufzuklären und im Gegensatz zu der Auffassung von dauernder Verseuchung und Infektiosität des Bodens der Frage näherzutreten, ob ein einmal Infizierter, Gesunder nicht durch größere Zeiträume hindurch Typhusbacillen abscheiden und derart eine permanente lebende Infektionsquelle darstellen kann.

Dieses Problem ist, glaube ich, gelöst. Besonders in S. habe ich ganz regelmäßige Untersuchungen der Rekonvaleszenten bei Typhus²⁾ angestellt und es fand sich, daß aus den bezeichneten Typhushäusern zwar die Infizierten herauskamen, daß sie aber — völlig gesund und arbeitsfähig aus dem Spital entlassen — in ihren äußerlich ganz normalen Abgängen massenhaft Typhusbacillen abschieden und so also in homine den Typhuskeim wieder ad hominem brachten. In allen diesen Häusern bei Nachbarn, welche denselben oft recht primitiven Abort benutzten, oder bei Kindern, welche mit krank Gewesenen spielten, trat dann nach einiger Zeit wieder Typhus auf, nachweislich oft, nachdem er durch einen larvierten, erst nachträglich zur Kenntnis gekommenen und bakteriologisch festgestellten Fall eine Vervielfältigung erfahren hatte. Auch in einem benachbarten Dorfe haben wir ein derart endemisch seit Monaten befallenes Haus in gleicher Weise als Typhusherde nachweisen können: Die Hausfrau selbst, nie erheblich krank gewesen, ohne belegte Zunge oder dergleichen bei wiederholten Untersuchungen befunden, schied 8 Wochen lang Typhusbacillen in reichlicher Menge mit dem Stuhle aus. Wie lange dieser Zustand schon bestand, ließ sich nicht ermitteln, da eine Erkrankung eben fehlte.

Nachdem wir so bei Rekonvaleszenten bzw. Genesenen — und zwar, wenn überhaupt, fast stets in reichlicher Menge! — die Typhuskeime nachgewiesen haben, entfällt meines Erachtens jede zwingende Veranlassung, an eine erheblichere Bedeutung einer selbst stattgehabten Bodeninfektion zu denken, und ich will hierzu nur kurz auf ein Gegenbeispiel hinweisen: Bei den Kanalisationsarbeiten in Trier im vorigen Jahre waren Dutzende von Arbeitern mit dem Aufwühlen des Bodens in den Straßen und Höfen beschäftigt; an einer ganz ausgiebigen

1) Herr Geheimrat Dönitz gestattet mir eben die Mitteilung, daß er im Urin einer Patientin noch 9 Monate nach der Erkrankung Typhusbacillen gefunden hat!

Anmerkung bei der Korrektur: In dem von uns beobachteten Falle sind jetzt im Stuhle noch nach 9 Monaten die Erreger in großer Menge (50—60 Proz. der gesamten Darmkeime) nachgewiesen!

2) Diese Arbeiten haben durch das Entgegenkommen des Herrn Dr. Mertz-Saarbrücken wesentliche Förderung erfahren.

„Verseuchung“ dieses Bodens aber, besonders nahe und unter den Häusern, wo die Hausanschlüsse gelegt wurden, war — bei dem bisherigen gänzlichen Mangel einer Kanalisation — nicht zu zweifeln. Es wurde mir damals von mehreren Aerzten geradezu Verwunderung darüber ausgesprochen, daß durch diesen stinkenden, „infizierten“ Boden noch keine Erkrankung bedingt worden sei. Es trat auch ein Typhusfall bei einem Kanalarbeiter auf: und dieser arbeitete um die fragliche Zeit an dem Abortanschlusse eines Krankenhauses, in welchem ich zu gleicher Zeit reichliche Typhusbacillen bei einer Patientin gefunden hatte! Dieser Arbeiter blieb der einzige Infizierte, der Boden blieb unschädlich.

Für die ganz enorme Bedeutung, welche derart — in unserem Sinne — vorzeitig entlassene Genesene für die weitere Typhusverbreitung haben, fanden sich nicht nur in S., sondern auch überall auf dem Lande und in kleineren Ortschaften zahlreiche Beispiele; auf das deutlichste zeigte sich das in einem Internat, in welchem in rascher Folge durch eine derartige Genesene unmittelbar, und durch weitere Kontakte mittelbar, nicht weniger als 16 Fälle verursacht wurden. — Eben hier höre ich, daß wohlangesehene Aerzte mit einer irgendwie erheblichen Ansteckungsfähigkeit des Typhus nicht rechnen. Demgegenüber muß doch eindringlich betont werden, daß der Typhus, wenn er auch an Infektiosität lange nicht an die Cholera heranreicht, recht ansteckend sein kann; wir sehen die Infektionen sowohl in der Praxis, wie wir auch die Infektionsmöglichkeit im Laboratorium beweisen können durch den kulturellen Nachweis der Erreger. Und hier stimmt die epidemiologische Beobachtung mit den obenerwähnten Befunden ganz überein: Im Beginne der Krankheit wie in der Genesung ist der Typhus vornehmlich ansteckend, wir finden deshalb so häufig, und zuweilen selbst bei relativ frühzeitiger Isolierung, daß schon ein weiterer Kontakt stattgefunden hat, und sehen aus gleicher Ursache in denselben Häusern den Typhus wiedererscheinen, nachdem der Gesundete wieder in sie zurückgekehrt ist.

Die praktische Folgerung ist unschwer zu ziehen und ich glaube, daß eben diese Feststellungen einen einfachen Weg für **die systematische Typhusbekämpfung** unter gewissen Verhältnissen weisen, die vor allem auf nicht allzu teuren, sondern unter allen Umständen durchführbaren Maßnahmen beruht.

Daß wir nicht alle Fehlerquellen vermeiden können, liegt auf der Hand. Aber daß wir die hauptsächlichsten Verbreitungswege kennen und daß wir sie abscheiden können, darf meines Erachtens behauptet werden.

Wir haben epidemiologisch 2 Erscheinungsformen für den Typhus:

1) Die explosive, in steiler Kurve ansteigende Epidemie; sie ist so gut wie immer durch infiziertes Wasser oder etwa noch durch infizierte Milch bedingt. Sie ist aber überhaupt keine Krankheitserscheinung sui generis am Volkskörper, sondern sie stellt eine durch unglückliche Zufälle verursachte Exacerbation eines schleichen Uebels dar. Dies Uebel ist die

2) Typhusepidemie, charakterisiert durch ein langsames, unter der Verbreitung sehr günstigen Umständen, wie sie z. B. enge überlegte Wohnungen abgeben, auch rascheres Fortschreiten der Infektion von Person zu Person, ganz unabhängig von Wasserversorgung, unabhängig von Bodenverhältnissen, direkt abhängig von der Infektiosität gewisser infizierter Menschen und der Fülle der die Uebertragung von diesen aus vermittelnden Gelegenheiten. —

Die Maßregeln, welche gegen den akuten Fall der Epidemie erforderlich werden können, erhellen aus dem früher Gesagten. Aber ohne endemischen Typhus keine Epidemie; eine rationelle Typhusbekämpfung hat also zunächst lediglich mit dieser endemischen, schleichenden, oft latenten Typhusverbreitung zu tun, dem chronischen Leiden des Volkskörpers.

Es wäre eine Utopie, durch rasche Beseitigung der ungünstigen, der Typhusverschleppung so sehr Vorschub leistenden Wohnungsverhältnisse allein dem Uebel radikal abhelfen zu wollen. Dann müßte man unter Umständen ganze Stadtteile abreißen.

Aber wenn man nach Möglichkeit einmal die latent oder larviert Typhösen herausfindet aus der Umgebung jedes Falles, und wenn man ferner vor allen Dingen den Infizierten so lange unschädlich macht durch Isolierung und Desinfektion, bis er keine Typhusbacillen mehr ausscheidet, so fängt man tatsächlich den Typhusbacillus beim Menschen ab. Daß dieses möglich ist, und daß die technischen Methoden dazu genügen, ist nun durch eine Reihe von Beispielen erhärtet — vor allem durch die Arbeiten in Waldweiler 1902, Saarbrücken (Regiment 70) 1902¹⁾, Thalexweiler.

Auch machen Beobachtungen, welche man als Militärarzt anzustellen seit lange in der Lage ist, die, ich möchte sagen, überwiegende Bedeutung gerade der Rekonvaleszenten für die Typhusverbreitung klar. Der Sanitätsoffizier entläßt seinen Typhusgenesenen zur Truppe als dienstfähig, der Zivilarzt den seinen als gesund, also jener erst durchschnittlich nach 9 Wochen und selbst später, dieser nach 2—4, höchstens 5 Wochen, und wir können uns nun ohne weiteres erklären, weshalb beim Militär so ungemein selten sich an einen entlassenen Fall noch weitere anschließen, obwohl in der Enge der Kasernen doch alle Gelegenheit zur Uebertragung gegeben wäre. Die Sache liegt also bezüglich der „Schlußuntersuchungen“ — und zwar wiederholter! — ganz ähnlich wie bei der Diphtherie²⁾; wie auch diese 1897 zu Posen unter Schüder von mir gemachten Untersuchungen mit ihren überraschenden Ergebnissen mir ein besonderer Anlaß waren, genauer auf die Typhusrekonvaleszenten zu achten.

Eine systematische Typhusbekämpfung wird also darauf ausgehen müssen, zunächst einmal in einem engeren, nach Möglichkeit wirtschaftlich abgegrenzten Gebiete durch sorgfältige Ermittlungen an Ort und Stelle die endemischen Herde, und in ihnen alle Infizierten herauszufinden; dann aber vor allem festzustellen, wie lange — ganz unabhängig von jedem äußeren Symptom! — der einmal Infizierte infektionstüchtig für die Umgebung bleibt, und ebenso lange seine Abgänge durch eine einfache und sichere Desinfektion unschädlich zu machen.

Der Kundige wird sofort selbst für diese einfachen Maßnahmen eine Menge von Schwierigkeiten sehen. Dadurch, daß die Untersuchungsanstalten dem Herrn Regierungspräsidenten direkt unterstehen und die eigentliche Exekutive bei der Bekämpfung in der Hand der Regierung liegt, stehen ja zahlreiche Organe schon für die Ermittlungen zur Verfügung, und diese Unterstützung gerade von seiten der Behörden ist eine sehr wirksame. Aber selbst wenn man alle Infektionen oder

1) Vergl. Conradi, v. Drigalski und Jürgens, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLII. 1902.

2) Vergl. auch R. Koch, l. c.

doch die meisten ermittelt, steht man vor der weiteren schwierigen Frage: Was fängt man mit den gesunden Infektiösen, und was mit den etwa noch lange infektiös bleibenden Genesenen an, da das Gesetz doch hier keine Handhabe, wie etwa bei der Cholera, bietet?

Diese Fragen, meine Herren, erledigen sich von Fall zu Fall. Gehören die noch unter Kontrolle zu Haltenden einer Korporation, wie der Belegschaft großer Werke oder der Kohlengruben an, so haben wir es in der Hand, durch diese Körperschaften einen erfolgreichen Druck ausüben zu lassen. Schwieriger steht es allerdings, wenn es sich um Frauen oder Kinder handelt; zuweilen gelang es auch bei ihnen, eine genügend lange Isolierung und Desinfektion durchzuführen, aber immer ist das natürlich nicht der Fall.

Nun sind aber diese Fälle von lange andauernder Bakterienausscheidung oder von Typhusbacillen bei Gesunden nicht die Regel, sondern es handelt sich immer nur um eine kleine Anzahl solcher Personen, die ein besonderes Augenmerk erfordern, und da hat es sich gezeigt, daß es schon von ganz wesentlicher Bedeutung ist, diese Fälle überhaupt zu kennen. Wir haben jetzt seit Monaten 2 derartige unter Ueberwachung, sie betreffen Hausfrauen, welche aus wirtschaftlichen Gründen nicht für lange Zeit ihrem Hause entbehrlich sind. Sie werden durch den beamteten Arzt, durch Mitglieder unseres Instituts, wie demnächst durch einen Desinfektor bei jeder Gelegenheit besucht und immer wieder auf die Beachtung der einfachen Desinfektionsmaßnahmen (z. B. stetige Benutzung eines gedeckten, halb mit dem Desinficiens gefüllten Desinfektionseimers bezw. Klosetteimers) hingewiesen. Die eine dieser Personen weist seit Monaten eine Darmflora auf, die ausschließlich aus Typhusbacillen besteht, sie stellt also geradezu ein wandelndes Kulturgefäß mit diesen Keimen dar, das sich von Zeit zu Zeit ausschüttet. Beide zeigten sich — die eine ist eine einfache Arbeiterfrau — unseren Vorstellungen durchaus zugänglich und haben tatsächlich bis heute keinen Schaden angerichtet. Weitere Bestrebungen sind natürlich auf die Auffindung eines Mittels gerichtet, welches diesen Zustand abstellen könnte (z. B. eine Kalomelkur), sie haben aber noch kein endgültiges Ergebnis gezeitigt.

Grundsätzlich sind folgende Maßnahmen in unserem Bezirk in Durchführung begriffen:

I. Nach Möglichkeit wird jeder als infiziert Erkannte in das Krankenhaus gebracht. Die meisten Gemeinden, die Werke mit eigenen Lazaretten, insbesondere die kgl. Bergbehörden bezw. der Saarbrücker Knappschaftsverein haben sich bereit erklärt, so weit als möglich, nötigenfalls auch durch besondere Unterstützungen diese Maßnahmen zu fördern und haben sie schon wesentlich gefördert.

II. Kein Genesener soll entlassen werden, bevor eine öftere (3—4malige) Untersuchung der Abgänge diese als unverdächtig erscheinen läßt; also grundsätzliche Schlußuntersuchungen, wie wir sie als Sanitätsoffiziere seit lange bei der Diphtherie ausüben! Für die Knappschafts- und die meisten großen Hüttenlazarette ist diese Anordnung bereits von den betreffenden Körperschaften seit einiger Zeit getroffen. Auch allen anderen Krankenhäusern ist durch die kgl. Regierung aufgegeben worden, jeden zur Genesung kommenden Fall dem beamteten Arzte anzuzeigen, der dann die Untersuchung beim Institut veranlaßt.

Auch für solche besonderen Kosten, welche etwa durch einen un-

gewöhnlich lange ausgedehnten Aufenthalt im Krankenhause entstehen, haben die Gemeinden etc. bereitwillig Beiträge zugesagt. — Da es sich immer nur um Ausnahmefälle handelt, bedingt auch diese Maßregel keine besonderen materiellen Schwierigkeiten.

III. In allen Fällen, welche nicht derart unschädlich zu machen sind, wird durch einen von den Städten gemeinsam im Hauptamt anzustellenden Desinfektor für wirksame laufende Desinfektion solange gesorgt, als es die Untersuchungen nötig erscheinen lassen. Dieser, der Untersuchungsanstalt als Diener angegliedert, steht zu jeder Zeit zur Verfügung und unter der gemeinsamen Kontrolle des beamteten Arztes wie der Anstalt.

Wir selbst haben das zu bearbeitende Gebiet gewissermaßen in kleine, genügend übersehbare Provinzen geteilt; der Dienst in einem solchen Bezirke ist einem bestimmten Mitgliede der Anstalt übertragen, die Saarstädte z. B. bilden ein derartiges Gebiet für sich. Jeder neu gemeldete oder ermittelte Fall wird in eine Art von Terminkalender eingetragen, und zwar mehrfach in gewissen Zeitabständen, welche auf die Inkubationsdauer von Infektionen berechnet sind, welche etwa im Augenblick der ersten örtlichen Feststellungen noch latent sind; es ist oben schon angedeutet, daß diese Zwischenräume sehr eng genommen werden, wenn Kinder in Frage kommen. Man hat so eine Uebersicht, welche es in einfacher Weise gestattet, sich über die mannigfachen Untersuchungen auf dem Laufenden zu erhalten, und die eine etwaige Verzettlung von Fällen nicht leicht eintreten läßt.

Endlich bemühen wir uns, durch Abhaltung von praktischen Kursen den Anschluß an die Aerzte nach Möglichkeit enger zu gestalten und ihnen (auf dem Gebiete aller Infektionskrankheiten) diejenige Unterstützung bezüglich Diagnose und Prophylaxe zu vermitteln, welche eine bakteriologische Untersuchungsanstalt leisten kann. Wir haben bereits durch diese Herren eine gewisse Förderung erfahren. Ich will nur erwähnen, daß von ihnen auch eine Reihe von Ruhrerkrankungen zur Feststellung gebracht worden ist, welche, zunächst nicht sehr zahlreich, mit ihrer Unterstützung leicht unschädlich gemacht werden konnten, und welche zeigten, daß wir auch diese Krankheit hier abzuwehren haben; und ich bemerkte schon gestern gelegentlich einer Diskussion, daß ich Anlaß habe, auch für die Bakteriendysenterie zwei klinisch ganz ähnliche, ätiologisch getrennte, wenn auch sich sehr nahestehende Formen — analog wie bei Typhus — anzunehmen¹⁾.

Der Erfolg aller dieser Bestrebungen kann nicht in kürzerer Zeit zahlenmäßig erwiesen werden. Es ist unmöglich, zumal bei den Schwankungen, denen diese Dinge naturgemäß unterliegen, in kürzerer Zeit gleich eine deutliche Abnahme zu erreichen, vielmehr wird und muß die Typhusziffer infolge umfassenderer Ermittlungen zunächst an manchen Orten scheinbar steigen, wie sie es bei uns getan hat.

Auch wieviel durch die systematische Ueberwachung unter Verhältnissen, welche mehrfach schon rechtzeitig als gefahrdrohend erkannt wurden, an Massenerkrankungen bereits verhütet worden ist, läßt sich bei dem Fehlen des Gegenversuches natürlich nicht erweisen. Aber die mit Verantwortung Beteiligten werden zufrieden sein, wenn

1) Nähere Mitteilung erfolgt noch.

eben drohendes Unheil nicht eingetreten ist, und es ruhig verschmerzen, wenn sie von den etwa in ihrer Bequemlichkeit Gestörten als „volksfeindlich“ verschrien werden.

Ein Einwand gegen die Möglichkeit eines Dauererfolges, selbst wenn vorerst durch Sanierung der endemischen Herde der Typhus zurückgedrängt ist, bleibt dann noch bestehen: Daß nämlich von weiteren Gebieten wieder neue Infektionen hereingetragen werden, die mit der Zeit dann den alten Zustand heraufbeschwören. Gegen diese Gefahr hat — wenigstens in so gefährdeten Bezirken — eine Ueberwachungsstation zu schützen, welche aber bei weitem nicht so stark und umfangreich zu sein braucht und mit geringeren Mitteln auskommen wird, wie die der Bekämpfung dienenden Einrichtungen. Eine solche Defensive üben wir ja schon in bestimmten Bezirken. dauernd aus und zwar neben den als Offensive aufgefaßten Hauptarbeiten.

Wir sind uns nicht im Unklaren darüber, daß der bezeichnete Weg mühsam und schwierig ist und daß wir nicht alle Fehlerquellen zugleich beseitigen können. Aber das haben meines Erachtens unsere Arbeiten wiederum dargetan, daß die Robert Kochschen Grundlagen der Bekämpfung richtig sind und daß die bakteriologischen Ermittlungen die **Hauptrichtung** angeben, in der wir allein gegen den Typhus vorgehen können und, wie ich glaube, auch müssen.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute Wien (Vorstand: Prof. Palt auf).]

Von Dr. B. Lipschütz.

I.

Das Bestreben, die oft so schwierige bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis leichter zu gestalten, führte zur Empfehlung einer großen Anzahl von Methoden und speziellen Nährböden, die namentlich eine sichere Differenzierung des Typhusbacillus vom *Bact. coli* ermöglichen sollten. Man suchte dies entweder durch gewisse Zusätze von Antiseptics zu erreichen, erzielte aber dadurch meistens eine gleichzeitige Entwicklungshemmung des Typhusbacillus; — oder der Unterschied in der Beweglichkeit beider Bakterienarten gab den Ausgangspunkt für die Herstellung des speziellen Nährbodens ab: ein Verfahren, welches noch keine allgemeine Anerkennung gefunden hat. Endlich suchte man durch die Heranziehung des bei Benutzung gewisser Zuckerarten verschieden auftretenden Gärvermögens beider Bakterienarten und durch Hinzufügen von Lackmustinktur „gefärbte Nährböden“ herzustellen, wodurch eine sinnfälligere Differenzierung des Typhusbacillus vom *Bact. coli* gegeben sein sollte. In diese letzte Gruppe gehört der „v. Drigalski-Conradische Nährboden“, und beruht darauf, daß bei Gegenwart von Eiweißstoffen und Kohlehydraten die Typhusbacillen sich ersteren zuwenden und Alkali produzieren, während letztere von

den Coli-Bacillen angegriffen werden und zur Säurebildung führen. Benutzt man daher einen mit Lackmuskinktur und Milchzucker versetzten Agar, so erscheinen die Coli-Kolonieen infolge ihrer Säureproduktion rot, die Typhusbacillen hingegen behalten auf blauem Grund ihre blaue Farbe bei. v. Drigalski und Conradi suchten nun durch wesentliche Modifikationen dieses an und für sich schon früher bekannte Verhalten beider Bakterienarten praktischen Zwecken entgegenzuführen und erreichten dies 1) dadurch, daß sie den Gehalt des Nährbodens an Agar auf 3 Proz. erhöhten, wodurch die Diffusion der von den Coli-Bacillen gebildeten Säure erschwert und daher eine scharfe Trennung von blauen und roten Kolonieen ermöglicht wurde; 2) daß sie durch den Zusatz einer stark verdünnten Kristallviolettlösung zahlreiche andere in den Faeces vorkommende Mikroorganismen am Auskeimen verhinderten; und 3) erhielten sie eine gleichmäßige Verteilung und Isolierung der Kolonieen durch die Benutzung eines von ihnen angegebenen, senkrecht gebogenen Glasstabes. Die aufgegangenen, blauen, typhusverdächtigen Kolonieen wurden behufs Identifizierung der mikroskopischen Agglutination unter dem Deckglase unterworfen und der Rest der Kolonie zur weiteren Prüfung auf Agar übertragen. Mit Hilfe ihres Nährbodens und der von ihnen gebrauchten Identifizierungsweise konnten die Autoren in sämtlichen untersuchten Typhusfällen — 50 an der Zahl — schon nach 18—24 Stunden die sichere Typhusdiagnose durch das Auffinden der Typhusbacillen in den Faeces stellen. Nach den Angaben der Autoren ermöglichte dieses Verfahren nicht nur eine Schnell-, sondern auch eine Frühdiagnose, was ja öfters von großer Bedeutung sein könnte. Die auffallend günstigen Resultate der Autoren veranlaßten mich, eine Ueberprüfung der gemachten Angaben vorzunehmen. Konnte man ja doch hoffen, die klinische Diagnose des Typhus abdominalis durch die bakteriologische Untersuchung des Stuhles stets absolut sicher zu gestalten.

Es wurde zunächst genau nach den Angaben von v. Drigalski und Conradi der Nährboden bereitet und wir überzeugten uns von seiner richtigen Zusammensetzung und Brauchbarkeit durch zahlreiche, von authentischen Typhus- und Coli-Stämmen des Institutes angelegte Kontrollplatten. Sämtliche Typhusstämme wuchsen als kleine, blaue, tautropfenähnliche Kolonieen, während die Coli-Stämme größere rote Kolonieen bildeten; ferner bekamen wir in derselben Platte rote und blaue Kolonieen, wenn wir ein Gemenge beider Bakterienarten zur Aussaat benutzten. Von den Kontrollplatten ließen sich stets, durch weitere Identifizierung der abgeimpften Kolonieen, die blauen als Typhus, die roten als Coli erkennen. Es gebührt also v. Drigalski und Conradi das Verdienst, in einer und derselben Platte eine sichere Trennung der zwei Bakterienarten ermöglicht zu haben.

Nun galt es, das Verhalten des Nährbodens und seine praktische Nutzenanwendung in Fällen zu prüfen, in welchen Faeces das Ausgangsmaterial der Untersuchung abgaben. Ich untersuchte zunächst ca. 20 Stühle, die von gesunden Personen und von Kranken stammten, die sicher nicht an Typhus abdominalis litten, und, wie nicht anders zu erwarten war, gingen ausschließlich rote Kolonieen auf, die als Coli-Bacillen identifiziert werden konnten. Nur in einem Falle gingen auch blaue, typhusverdächtige Kolonieen auf, die aber Zucker vergärten und Milch koagulierten und vollkommen negative Agglutination ergaben. Zur eigentlichen Untersuchung übergehend, hatte ich die Gelegenheit, 17 von Typhuskranken stammende Stühle zu untersuchen. Daß es sich

um Typhuskranke handelte, ging aus der klinischen Untersuchung, aus der positiven Gruber-Widalschen Reaktion hervor und in den Fällen, welche zur Sektion kamen, konnte letztere die klinische Diagnose vollkommen bestätigen. Was die Art der Verarbeitung der Typhusstühle betrifft, so wurden die flüssigen unmittelbar verwendet, die festen hingegen durch Aufschwemmen von einer bis mehreren Oesen in Bouillon oder steriler physiologischer Kochsalzlösung in eine der Untersuchung passende Form übergeführt. Von jedem Stuhle wurden stets mehrere — meistens 5 — Platten gestrichen und selbstverständlich bei jeder Untersuchung ein authentischer Typhusstamm des Institutes und ein Coli-Stamm zur Kontrolle herangezogen. Nach 24 Stunden wurden die blauen, typhusverdächtigen Kolonien weiter verarbeitet, wobei wir nebst der mikroskopischen Untersuchung und der Ausführung der mikro- und makroskopischen Agglutination auch die gesamte kulturelle und chemische Untersuchung vornahmen (Gelatineplatte, Gelatinestich, Agarstrich, Agarstich, Zuckeragarstich, Milch, Kartoffel, Lackmusmolke, Neutralrotagar, Indolreaktion). Trotz wiederholt ausgeführter Untersuchung von einzelnen Fällen konnte ich keine günstigen Resultate erzielen; denn in 12 Fällen gingen ausschließlich rote, bei weiterer Bestimmung als Coli anzusprechende Kolonien auf; 4mal fand ich auch mäßig zahlreiche, blaue, typhusverdächtige Kolonien, die weitere Untersuchung zeigte jedoch, daß wir es mit dem *Bac. faecalis alcaligenes* oder mit Zucker vergärenden und Milch zur Koagulation bringenden Stämmen zu tun hatten, und nur in einem Falle konnte ich fast in Reinkultur Typhusbacillen in den Faeces nachweisen.

Bei diesen nicht sehr ermutigenden Resultaten war es nun von Interesse, festzustellen, wie sich der v. Drigalski-Conradische Nährboden bei der Untersuchung anderer Exkrete von Typhuskranken bewähren würde, und dies um so mehr, als von anderer Seite keine diesbezüglichen Untersuchungen vorliegen. Es standen mir zu diesem Zwecke 5 von Typhuskranken stammende Harne zur Verfügung, welche direkt, ohne weitere Verdünnung, zum Streichen der Platten benutzt wurden. In sämtlichen Platten gingen zahlreiche blaue, typhusverdächtige Kolonien auf und die weitere Untersuchung ergab in 3 Fällen den sicheren Nachweis von Typhusbacillen, während in 2 Fällen es sich um andere Mikroorganismen gehandelt haben muß (Milchgerinnung, Indolbildung, Zuckervergärung).

Der auffallende Unterschied in den Resultaten bei den Untersuchungen von Faeces und Harn von Typhuskranken mußte wohl die Frage auftauchen lassen, welchen Umständen in unserem Falle das so seltene Auffinden der Typhusbacillen in den Faeces zuzuschreiben wäre. Wir sind der Ansicht, daß man hier wesentlich zwei Momente berücksichtigen müssen: einmal die Art der Verteilung der Typhusbacillen im Stuhl und zweitens ihre zeitliche Ausscheidung mit den Faeces. Der Stuhl des Typhuskranken enthält durchaus nicht die Erreger der Krankheit gleichmäßig verteilt; oft sind sie nur in einer kleinen Schleinflocke enthalten, während sie in der Umgebung vollständig fehlen können. Auch ist die Zahl der im typischen typhösen Stuhle von flüssiger Konsistenz vorkommenden Bacillen nicht übereinstimmend mit der der festen Stühle gegen Ende der Krankheit oder in der Rekonvaleszenz, so daß die Chancen für die Züchtung der Typhusbacillen bei Verwendung typischer Stühle wohl ungleich größer sind. Ferner bleibt es, solange wir nicht beim Typhus eine Anreicherungsverfahren kennen, ja nur dem Zufall anheimgestellt, ob die zur Untersuchung gelangende Oese des

Typhusstuhles in der Tat Typhusbacillen enthält oder nicht. Aber auch die Ausscheidung der Bacillen mit den Faeces erfolgt im Verlaufe der Krankheit nicht gleichmäßig und kann sich zeitlich, namentlich auch beim Auftreten gewisser Komplikationen, wie Darmblutungen, höchst verschieden verhalten. Beobachter, wie Karlinkski etc., wollen Typhusbacillen in den Faeces nie vor dem 9. oder 10. Tage gefunden haben, und es wird mit Recht behauptet, daß man hier den anatomischen Verhältnissen Rechnung tragen müsse, indem das Auftreten der Typhusbacillen im Stuhle nie vor Anfang der 2. Krankheitswoche erfolgt, also mehr oder weniger jener Zeit entspricht, wo die markige Infiltration der affizierten Peyerschen Plaques der Verschorfung und Nekrose anheimfällt. Ebenso begreiflich ist das zahlreiche Vorkommen von Bacillen in den Faeces beim Auftreten von Darmblutungen, welche ja als Zeichen einer tiefgreifenden Geschwürsbildung und des Fortschreitens des typhösen Prozesses aufzufassen sind. Beim Abklingen der Krankheit und mit zunehmender Konsistenz der Faeces nimmt dann auch die Zahl der Bacillen ab. Wir sehen also, daß verschiedene Momente, wie Beschaffenheit und Konsistenz der Stühle, der Zeitpunkt der Untersuchung, gewisse Komplikationen im Krankheitsbilde etc., auf den positiven oder negativen Ausfall der bakteriologischen Untersuchung von Einfluß sein können. Nur kurz möge hier noch daran erinnert werden, daß bei einer kleinen Anzahl von sicheren Typhusfällen der Darm keine oder fast keine Mitbeteiligung zeigt und daß in solchen Fällen die Stuhluntersuchung natürlich nicht von Erfolg sein wird.

Wir haben bisher die mit dem „v. Drigalski-Conradischen Nährboden“ erzielten Resultate erwähnt und die Umstände hervorgehoben, die bei der Züchtung der Typhusbacillen aus den Faeces von Bedeutung sein können, und müssen uns nun mit der Frage befassen: in welcher einwandfreier Weise können die gezüchteten Stämme als echte Eberthsche Bacillen identifiziert werden? v. Drigalski und Conrad bestimmten diejenigen Kolonien als dem *B. typhi* gehörig, welche einerseits auf ihrem Nährboden das charakteristische Verhalten aufwiesen, indem sie als kleine, blaue, tautropfenähnliche Kolonien wuchsen, andererseits, wenn sie ein positives Resultat bei der Agglutination in der Verdünnung von 1:200 und eventuell 1:1000 eines hochwertigen Immunserums ergaben. Nach den Erfahrungen der letzten Jahre scheint mir diese in so engen Grenzen sich bewegende Identifizierungsweise nicht berechtigt zu sein, und soll die bakteriologische Diagnose gerade des Typhusbacillus auf möglichst breiter Basis, mit Heranziehung möglichst vieler Merkmale, ausgeführt werden, weil diesem Stäbchen, von den biologischen Methoden abgesehen, nur eine Reihe negativer Merkmale zukommt und diese allein nicht als entscheidend zu betrachten sind. Die Diagnose des Typhusbacillus ist nun aber auch dadurch erschwert worden, als in den letzten Jahren eine Reihe „typhusähnlicher“ Stäbchen entdeckt worden ist, welche im konkreten Falle der Differenzierung Schwierigkeiten machen können. Schottmüller, Kurth, Kayser etc. zeigten, daß bei einer Reihe von klinisch unter dem Bilde des Typhus abdominalis verlaufenden Fällen man aus dem Blute Bacillen züchten kann, die sich vom Typhusbacillus vielfach unterscheiden, namentlich Zucker vergären und vom Typhusimmunserum in der Regel unbeeinflusst bleiben. Sternberg züchtete aus dem Wasser Stäbchen, die Zucker vergären und Milch koagulieren, nach seinen Angaben aber vom Typhusimmunserum in beträchtlichen

Verdünnungen, einzelne bis zur 1000- und 1400-fachen Verdünnung, agglutiniert wurden. Conradi, v. Drigalski und Jürgens beschrieben ein typhusähnliches Stäbchen, das nebst Zuckervergärung auch in 500-facher Verdünnung des Typhusimmunserums Agglutination aufweist. Ferner zeigen einzelne der in der Gruppe XV Flügge enthaltenen, zwischen *B. typhi* und *Coli* stehenden Bakterien, sowie auch der *B. enteritidis* Gärtner eine gewisse Beeinflussung durch das Typhusimmunserum. Es ist daher bei Benutzung des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens nicht unwichtig, das Verhalten der „typhusähnlichen Stäbchen“ zu dem erwähnten Nährboden einerseits und andererseits zum Typhusimmunserum zu verfolgen. Tabelle I ist teils nach eigenen Erfahrungen, teils nach Bruns und Kayser zusammengestellt, da mir die Bakterien der Gruppe XV Flügge nicht zur Verfügung standen.

Tabelle I.

Das Verhalten der „typhusähnlichen Stäbchen“ zum v. Drigalski-Conradischen Nährboden und zum Typhusimmunserum.

Bezeichnung des Bakteriums	Verhalten auf dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden	Verhalten zum Typhusimmunserum		Bezeichnung des Bakteriums	Verhalten auf dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden	Verhalten zum Typhusimmunserum	
		nach Bruns und Kayser	nach eigenen Versuchen			nach Bruns und Kayser	nach eigenen Versuchen
<i>B. typhi</i> Eberth	blau	1:50 000 +	1:20 000 +	Saarbrückener Stäbchen v. Drigalski, Conradi und Jürgens	blau	1:500 + ¹⁾	.
<i>B. paratyphi</i> Typus Müller	„	1:250 +	—	Stamm von Musehold	„	1:1000 + ¹⁾	.
<i>B. paratyphi</i> Typus Seemann	„	1:250 +?	1:60 +	Stamm von Klinger	„	1:1000 + ¹⁾	.
Paracoli Sternberg Stamm KB	„	.	1:200 +	<i>B. bovis</i> moribificans	„	1:250 +?	.
Paracoli Sternberg Stamm WL	rot	.	1:200 +	<i>B. breslaviensis</i>	„	1:250 +?	.
Paracoli Sternberg Stamm C ₁₄	blau	.	1:200 +	<i>B. Friedbergensis</i>	„	1:1000 +	.
<i>Coli</i> Es. (eigener Stamm)	rot	.	1:200 +	<i>B. bremsensis</i> febris gastricae Kurth	„	1:500 +	.
<i>B. dysenteriae</i> Stamm Kruse	blau	.	—	<i>B. paracoli</i> gasoformans Kayser	„	—	.
<i>B. dysenteriae</i> Stamm Müller	„	.	—	<i>B. faecalis</i> alcaligenes	„	—	—
<i>B. enteritidis</i> Gärtner	„	1:100 +	1:400 +				

Man ersieht aus der Tabelle, daß nicht nur dem Typhusbacillus, sondern auch einer großen Zahl von „typhusähnlichen“ Stämmen die Eigenschaft zukommt, auf dem öfters erwähnten Nährboden die Kohlehydrate intakt zu lassen, vielmehr sich den Eiweißstoffen zuzuwenden, diese anzugreifen und Alkali zu produzieren; ferner, wie auch schon Musehold und Klinger vor uns in einzelnen Fällen zeigen konnten, daß man durch das charakteristische Wachstum auf dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden und durch die Agglutination in der Verdünnung von 1:200 oder 1:1000 eines Typhusimmunserums noch nicht berechtigt ist, die Diagnose auf den *Bac. typhi* zu stellen und in dieser Weise eine Schnell- und Frühdiagnose zu ermöglichen; denn die weitere Unter-

1) Nach eigenen Angaben der betreffenden Autoren.

suchung könnte uns durch die eingetretene Milchgerinnung oder Zuckergärung etc. eines Besseren belehren. Es ergibt sich daraus die Notwendigkeit, die gesamte kulturelle und chemische Untersuchung des mit dem *B. typhi* zu identifizierenden Stammes durchzuführen, welche ja meistens einige Tage in Anspruch nehmen muß. Haben wir daher von dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden Vorteile zu erwarten? Zunächst ist es klar, daß trotz sicher bestehendem Typhus abdominalis in der zur Untersuchung gelangenden Oese des Stuhles sich überhaupt keine Typhusbacillen finden müssen und darin wird jedem Nährboden eine natürliche Grenze gesetzt. Aber wenn auch durch einen glücklichen Zufall das Partikelchen des Stuhles, das wir untersuchen, Typhusbacillen enthält, so kann die sichere Diagnose nach obigen Ausführungen doch nur auf Grund einer komplizierten Untersuchung gestellt werden. Der v. Drigalski-Conradische Nährboden besitzt aber dennoch einen bedeutenden Vorteil, indem er uns einen einfachen Weg zum Herausfinden der typhusverdächtigen Kolonien gestattet; wir brauchen nämlich sämtliche auf diesem Nährboden rot aufgegangenen Kolonien, die ja sichere *Coli*-Stämme sind, überhaupt nicht weiter zu berücksichtigen, und die weitere Prüfung wird sich ausschließlich den kleinen, blauen, typhusverdächtigen Kolonien zuwenden. Letztere können aber ebensogut Typhusbacillen als auch Paratyphus-, ferner Dysenteriebacillen etc. sein. Es wird daher in zweifelhaften Fällen, in welchen die Diagnose zwischen Typhus- und Paratyphus oder sogar Dysenterie schwankt, die Identifizierung der blauen Kolonien mittels Agglutination nicht nur mit Typhus-, sondern auch mit Paratyphus- resp. Dysenterieserum vorzunehmen sein.

II.

Bei der Bestimmung der aus Faeces und Harn gezüchteten Typhusstämmen mit Hilfe der Agglutination beschäftigte mich die oft schon ventilirte Frage: welche Höhe der Agglutination ist im Stande, uns sichere Resultate zu liefern? Daß relativ niedere Agglutinationswerte unter Umständen leicht zu fehlerhaften Schlüssen führen können, wurde ja oben gezeigt (Tabelle I), indem in gewissen nicht unbeträchtlichen Verdünnungen auch Stämme, die sich leicht vom *B. typhi* unterscheiden lassen, vom Typhusimmenserum agglutiniert werden. Nun wird aber oft in durchaus empirischer Weise die Grenze der entscheidenden Agglutinationshöhe festgesetzt, wobei noch ferner ein anderer wichtiger Umstand in Betracht kommt, der nämlich, daß die in verschiedenen Arbeiten verwendeten Immunsere Differenzen, namentlich bezüglich ihrer Titres, aufweisen. So verwendete Van de Velde ein Serum vom Titre 1 : 1 000 000, während man doch meistens nur mit Sera vom Titre 1 : 5000 bis 1 : 10 000 arbeitet. Eine Konsequenz dieser Ungleichmäßigkeit und Verschiedenheit in den Versuchsbedingungen sind dann die verschiedenen Resultate, zu denen die Autoren bei ihren Versuchen gelangen. So behauptete Beco in einer ersten Mitteilung, daß die Agglutination zwischen dem Typhusbacillus und dem *Bact. coli* keine sichere Unterscheidung ermögliche und Sternberg konnte mit dem ihm im Beginne seiner Untersuchungen zur Verfügung stehenden Immenserum ebenfalls keine sichere Differenzierung des Typhusbacillus von seinen „Paracoli-Stämmen“ durchführen. Beide Autoren mußten jedoch bei Verwendung eines hochwertigeren Immunsere ihre Ansicht modifizieren. Von gewissem Interesse war auch die Beobachtung, daß die Paracoli-Stämme Sternbergs,

von denen einzelne bis zur 1000- und 1400-fachen Verdünnung des Typhusimmunserums agglutiniert wurden, bei der Nachprüfung durch Kraus und in zahlreichen eigenen Agglutinationsversuchen ganz andere und zwar viel geringere Agglutinationswerte besaßen. Es war daher wichtig, dieser Tatsache nachzuforschen, da man durch ihr Studium vielleicht Aufschluß über andere hier einschlägige Fragen erwarten konnte. Ich habe Agglutinationsversuche angestellt, zu welchen fünf verschiedene Typhusimmunsera und nebst einem Kontrolltyphusstamm und den „Paracoli-Stämmen“, auch eine Reihe sogenannter „typhusähnlicher Stäbchen“ herangezogen wurde, da ja auch bei letzteren oft eine gewisse Beeinflussung durch das Typhusimmunserum zu konstatieren ist. Ich lasse eine genaue Angabe der verwendeten Sera folgen:

1) Typhusimmunserum „Elsa“. Alter 2 Jahre. Titre 20 000. Wurde mit abgetöteten Agarkulturen des Laboratoriumtyphusstammes gewonnen.

2) Serum „Zoroaster“. Alter 3 Jahre, Titre und Art der Gewinnung wie bei 1.

3) Serum „Tavel“. Aelteres Serum. Titre 10 000. Dieses Serum verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Heller aus Bern.

4) Serum „Edgar“, gewonnen mit lebenden Bouillonkulturen von fünf miteinander gemengten, von mir frisch gezüchteten Typhusstämmen (vide Stämme sub 1). Immunisierungsdauer 8 Monate. Titre > 10 000.

1—4 sind Pferdesera.

5) Typhusimmunserum von Kaninchen No. 31. Immunisiert mit 17 abgetöteten und 4 lebenden Kulturen des Laboratoriumtyphusstammes. Frisches Serum. Titre 600.

Stämme: 1) Kontrollstamm Ty Br., Typhus I, Typhus II, Typhus IV, Typhus V, Typhus VI.

2) Paratyphusstamm Typus A Müller; Paratyphusstamm Typus B Seemann. Beide verdanke ich Herrn Regimentsarzt Dr. Doerr.

3) Paracoli-Stämme Sternbergs KB, WL und C₁₄.

4) Coli-Stämme Es. und Kr., selbst gezüchtet aus dem Harne einer Cystitis.

5) Dysenteriestämme „Kruse“ und „Müller“.

6) Bac. enteritidis Gärtner.

Die sub 3), 5) und 6) erwähnten Stämme werden im Institute fortgezüchtet.

Zur Agglutination, die makroskopisch ausgeführt wurde, benutzte ich 18—24-stündige Agarkulturen, die in je 15 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Es wurden folgende Verdünnungen verwendet: 1:60, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1000, 1:5000, 1:10 000, 1:20 000.

Die Resultate dieser Agglutinationsversuche gibt Tabelle II wieder, in welcher die Zahlen Agglutinineinheiten repräsentieren, wobei wir unter „Agglutinineinheit“ jene Menge eines Agglutinins (Serum) verstehen müssen, die hinreicht, um eine gleich große Menge der Bakterienkultur zu agglutinieren. Es gibt der Verdünnungsgrad, in welchem die Agglutination eben noch erfolgt, dann direkt die Zahl der vorhandenen Agglutinineinheiten an. Aus Tabelle II läßt sich kein Parallellismus zwischen Titre des Immunserums und Ausdehnung der Gruppenagglutination auf Verwandte des Bakteriums, mit dem das Serum gewonnen wurde, ableiten. So wird beispielsweise der Paracoli-Stamm KB vom Serum „Elsa“ (Titre 20 000) in geringerer Verdünnung agglutiniert, als vom Serum „Tavel“ (Titre 10 000); für diesen Stamm weist Serum

Tabelle II.

Bezeichnung des Stammes	Serum Elsa (Titre 20 000)	Serum Tavel (Titre 10 000)	Serum Edgar (Titre 10 000)	Serum Kaninchen No. 31 (Titre 600)	Serum Zoroaster (Titre 20 000)
B. typhi (Kontrollstamm)	20 000	10 000	10 000	600	20 000
B. paratyphi Typus Müller	—	—	—	—	—
B. paratyphi Typus Seemann	60	60	—	60	—
Paracoli Stamm KB	100	200	60	—	—
Paracoli Stamm WL	200	60	—	—	—
Paracoli Stamm C ₁	200 + 400 ?	60	200	—	—
Coli Es.	—	60	60	—	—
Coli Kr.	—	—	—	—	—
B. dysent. „Kruse“	—	—	—	—	—
B. dysent. Müller“	—	—	—	—	—
B. enteritidis Gärtner	100	400	—	—	—

„Edgar“ nur 60 Agglutinationseinheiten auf, während Serum „Zoroaster“ ihn überhaupt nicht beeinflusst. Auch aus den Agglutinationsversuchen von Kraus ergibt sich kein direkter Zusammenhang zwischen Titre des Serums und „Mitagglutination“ dem Typhus nahestehender Stäbchen; denn obwohl Kraus zur Agglutination der Paracoli-Stämme ein Serum von doppelt so hohem Titre benützte, als das in der Arbeit Sternbergs verwendete, erhielt er ca. 5—7-fache geringere Agglutinationswerte.

Die verschiedenen Resultate all dieser Agglutinationsversuche lassen sich nur bei Berücksichtigung eines bis jetzt viel zu wenig gewürdigten Umstandes befriedigend erklären, nämlich wenn man die Verschiedenheiten der Immunsera mit Bezug auf ihren quantitativen und qualitativen Gehalt an Nebenagglutininen berücksichtigt. Ein gutes Beispiel liefern uns die Sera „Elsa“ und „Zoroaster“. Beide sind Pferdeimmunsera von gleich hohem Titre und wurden beide mit abgetöteten Kulturen desselben Typhusstammes gewonnen; obwohl nun beide gleichviel „Hauptagglutinin“ besitzen (bei beiden Titre 20 000), agglutiniert das Serum „Elsa“ manche typhusähnliche Stämme bis zur 400-fachen Verdünnung, während das Serum „Zoroaster“ mit denselben Stämmen durchaus negative Resultate gibt. Der Gehalt eines Immunserums an Nebenagglutininen hängt daher wohl hauptsächlich von zwei Momenten ab: einmal ob der zur Immunisierung verwendete Typhusstamm, mit den sogenannten „typhusähnlichen“ Stämmen identische Protoplasmagruppen besitzt, respektive von der Menge letzterer und ferner nicht nur von der innerhalb verschiedener Tiergattungen, sondern auch zwischen Tieren derselben Species höchst schwankenden Empfänglichkeit oder in der Ehrlich'schen Ausdrucksweise, dem ungleichen Besitze von entsprechenden Rezeptoren für die verschiedenen Bestandteile der zur Immunisierung verwendeten Bakteriensubstanz. Daß auch die Dauer, Art der Immunisierung etc. Momente sind, die den Nebenagglutinin-gehalt, wie ja auch die Menge des Hauptagglutinins eines Immunserums beeinflussen, steht wohl außer Frage, doch kommen diese Faktoren erst in zweiter Linie in Betracht.

Man kann nun es als Regel betrachten, daß das Immunserum einen hohen Gehalt an Haupt- und geringe Mengen Nebenagglutinine besitzt. Es kann aber auch vorkommen — und die oben angeführten Momente machen es uns erklärlich — daß eine geringe Differenz zwischen beiden besteht, also beide sich in ihrem quantitativen Vorkommen im Immun-

serum einander genähert haben. Mit einem derartigen Immuserum wird man keine sichere Differenzierung des Typhusbacillus von ihm nahe stehenden Stämmen durchführen können (Fälle von Beco und Sternberg). Wird nun nach diesen Erörterungen die Frage aufgeworfen, welche Agglutinationshöhe als für den Typhusbacillus beweisend anzunehmen wäre, so läßt sich die Antwort darauf nicht einfach in Zahlen ausdrücken. Denn nur der direkte Agglutinationsversuch allein kann über die Brauchbarkeit eines Immuserums in jedem einzelnen Fall belehren, und es scheint nur bei sehr hochwertigen Seris die Differenz in dem quantitativen Verhältnisse zwischen Haupt- und Nebenagglutininen eine solche Größe darzustellen, daß wir nur bei Verwendung solcher Sera eine sichere Differenzierung von nahe verwandten Stämmen durchführen können. Aber auch dann wird es sich empfehlen, dem Vorschlage Wassermanns folgend, bei dem mit dem Typhusbacillus zu identifizierenden Stamme die Agglutination mit dem Titre des hochwertigen Immuserums recht nahe heranreichenden Verdünnungen vorzunehmen, also sogenannte „Endverdünnungen“ zu benützen. Voraussetzung dafür wäre nun, daß sämtliche Typhusstämme von demselben Immuserum gleich hoch agglutiniert würden; es ist aber bekanntlich ein ziemlich häufiges Vorkommen, und ich konnte mich selbst davon des öfteren überzeugen, daß verschiedene Typhusstämme bei der Agglutination ein ungleiches Verhalten zeigen, und dieser Umstand leistet dem zitierten Vorschlage Wassermanns gewissermaßen Abbruch und fällt wohl nur bei Benützung hochwertiger Sera wenig in die Wagschale.

Die ungleiche Agglutinabilität verschiedener Typhusstämme führt uns zum Studium der Verschiedenheiten der „agglutinablen Substanz“ der Bakterienleiber. Denn wenn es auch vollkommen sicher feststeht, daß sämtliche in den verschiedensten Laboratorien gezüchteten Typhusstämme eine biologische Einheit darstellen, so zeigen letztere gerade bei der Agglutination gewisse Unterschiede, die wohl darauf hinweisen, daß die „agglutinable Substanz“ nicht einen konstanten und keinerlei Modifikationen aufweisenden Körper repräsentiert. Zunächst geht aus den Untersuchungen von Pfeiffer und Kolle hervor, daß die Agglutination eine Funktion der Virulenz des Stammes darstellt und in einer vor kurzem erschienenen Arbeit von Neufeld konnte gezeigt werden, daß ein hochvirulenter Streptokokkenstamm, der der Agglutination mit einem Streptokokkenserum Widerstand leistete, schon nach kurzer Zeit bei erfolgter Virulenzverminderung einen Agglutinationswert 1:20 000 erlangte. Ferner weiß man — und diese Tatsache hängt vielleicht mit der Virulenz zusammen — daß alle Typhusstämme, die lange Zeit nur auf künstlichen Nährmedien fortgezüchtet werden, viel leichter agglutiniert werden, als frische eben aus dem Organismus herausgezüchtete Stämme. Letztere müssen sich daher in ihrer „agglutinablen Substanz“ wesentlich anders verhalten, als alte Stämme, und es muß im Laufe der Zeit und wahrscheinlich auch unter Beeinflussung der künstlichen Nährböden eine Aenderung — auch im Sinne einer Virulenzverminderung — eintreten, derart, daß die agglutinable Substanz sich mit dem Agglutinin leicht zu einer deutlichen Reaktion vereinigen kann. Angaben über schwer agglutinable junge Typhusstämme finden sich namentlich bei französischen Autoren (Sacquipée, Rodet, Rehns etc.) und vor einiger Zeit hat P. Th. Müller über einen solchen Fall berichtet. Auch ich habe ähnliche Erfahrungen gemacht. 3 aus Harnen von Typhuspatienten mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens gezüchteten Typhus-

Tabelle III.

Bezeichnung des Stammes	22. XI. 1902					18. XII. 1902					23. I. 1903				
	1:200	1:1000	1:5000	1:10000	1:20000	1:200	1:1000	1:5000	1:10000	1:20000	1:200	1:1000	1:5000	1:10000	1:20000
Kontrolltyphus Br.	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ty I	+?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Ty II	+?	+?	-	-	+	+	+	?	-	-	+	+	+	+	+
Ty VI	?	?	?	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+

stämme, die bezüglich ihres morphologischen und kulturellen Verhaltens vom Laboratoriumtyphusstamm nicht zu trennen waren, mußten anfangs Zweifel erregen, da die mit Typhusimmenserum „Elsa“ vorgenommene Agglutination selbst bei 200- und 1000-facher Verdünnung zweifelhaftes respektive negative Resultate ergab. Im Laufe der nächsten Monate und infolge des häufigen Uebertragens auf künstliche Nährmedien, konnte bei diesen Stämmen eine immer deutlicher zu Tage tretende Agglutination wahrgenommen werden, so daß derzeit fast keine Differenz zwischen der Agglutinabilität dieser Stämme und des Kontrolltyphusstammes sich nachweisen läßt. Daß wir es hier mit echten Typhusstämmen zu tun hatten, konnten wir auch aus dem Umstande schließen, daß das mit letzteren immunisierte Pferd „Edgar“ ein Serum lieferte, das den Kontrolltyphusstamm prompt agglutinierte. Aus all diesen Beobachtungen ist der praktische Schluß gerechtfertigt, daß man aus dem Ausbleiben der Agglutination bei einem aus typhusverdächtigem Material frisch gezüchteten und morphologisch und kulturell mit dem Kontrollstamm übereinstimmenden Stäbchen noch nicht die Behauptung aufstellen darf, es handle sich nicht um einen Typhusstamm. Man wird vielmehr in solchen Fällen erst nach einiger Zeit und nach häufig erfolgtem Ueberimpfen, bei einem nochmaligen Agglutinationsversuch die sichere Entscheidung zu treffen haben. Vielleicht wäre auch, nach dem Vorschlage Wassermanns, der Bindungsversuch anzustellen, um trotz ausbleibender sichtbarer Agglutination, allein aus der erfolgten Bindung des Agglutinins die sichere Diagnose zu treffen.

Daß die „agglutinierbare Substanz“ bei verschiedenen Typhusstämmen Unterschiede aufweist, glaube ich ferner aus dem Studium des „Hemmungsphänomens“ schließen zu dürfen. Pick, Eisenberg und Volk zeigten, daß bei Anwendung konzentrierter Mengen älterer Immunsere die Agglutination ausbleibt. Nach Shiga, Lipstein, Volk und de Waele kommt es zur Hemmung auch bei frischen Immunsereis. Die meisten Autoren, die sich mit dem Studium des Hemmungsphänomens befassen, wenden ihr Augenmerk ausschließlich dem Serum zu und erklären daher diese Erscheinung nur aus der Beschaffenheit des Serums, indem sie „Agglutinoide mit erhöhter Affinität“ oder „Proagglutinoide“ annehmen, welche die Bakterienrezeptoren besetzen und daher die Verbindung mit dem Agglutinin hindern. Benutzt man aber zum Agglutinationsversuch verschiedene Typhusstämmen, so läßt sich leicht die Beobachtung machen, daß, während der eine Stamm deutliche Hemmung aufweist, ein anderer, natürlich bei Benutzung desselben Immunsereis, selbst bei sehr kon-

zentrierten Serummengen (1 : 2 und 1 : 10) nach 2 Stunden Bruttemperatur komplett oder fast komplett agglutiniert ist. Ganz ähnliche Resultate beobachtete ich ferner bei Agglutinationsversuchen mit verschiedenen Coli-Stämmen. Eine Differenzierung der „agglutinierbaren Substanzen“ verschiedener Typhusstämme macht sich auch durch die ungleich großen Hemmungszonen kenntlich und es scheint ferner auch die Art des verwendeten Nährbodens — Bouillon oder Agar — von Bedeutung zu sein; denn es ergaben sich bei einzelnen Stämmen deutliche Unterschiede, je nachdem Kulturen des einen oder anderen Nährmittels zur Agglutination benutzt wurden. So zeigt zunächst Tabelle IV, daß bei der Agglutination

Tabelle IV.
Nach 2 Stunden 37°. Immuserum „Tavel“.

Name des Stammes	1 : 10	1 : 20	1 : 60	1 : 100	1 : 200	1 : 500
Ty Br. Bouillonkultur	+	+	+	+	+	+
Ty Br. Agarkultur	—	—	+	+	+	+
Ty II Bouillonkultur	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?
Ty II Agarkultur	—	—	—	—	—	—
Ty V Bouillonkultur	+	+	+	+	+	+
Ty V Agarkultur	+ ?	+	+	+	+	+

mit dem Typhusimmuserum „Tavel“, bei den Stämmen Br. II und V und zwar nur bei den Agarkulturen Hemmung aufgetreten ist, die Bouillonkulturen hingegen beim Stamm Br. komplett, bei den anderen fast komplett bis undeutlich agglutiniert wurden. Auch die Größe der Hemmungszonen ist bei den einzelnen Stämmen verschieden; so reicht sie bei Stamm Br. bis zur 20-fachen Serumverdünnung, bei Stamm Ty II ist sie hingegen 10mal größer. Diese Unterschiede lassen sich auch nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur beobachten; ferner gelangte ich auch bei Anwendung anderer Typhusimmunsera („Elsa“, „Edgar“) zu denselben Resultaten. Nach diesen Versuchen ist meines Erachtens die Annahme erlaubt, daß die Hemmung nicht allein in der Beschaffenheit des Serums (abgebautes, älteres oder mit Karbol versetztes Serum etc.) begründet sei, sondern daß auch dem zweiten, wichtigen Faktor bei der Agglutination, nämlich der „agglutinierbaren Substanz“ der Bakterienleiber, dabei eine gewisse Rolle zukommt, wenn auch vorläufig dahingestellt bleiben mag, welche nähere Beschaffenheit der „agglutinierbaren Substanz“ hier von Bedeutung ist.

Joos endlich hat gezeigt, daß Agglutinin und agglutinierbare Substanz keine einheitlichen Körper darstellen. Nach diesem Autor setzt sich die agglutinierbare Substanz aus 2 Komponenten zusammen, von denen die eine, α -Agglutinogen, bei 62° C zerstört wird, während die zweite, β -Agglutinogen, hitzebeständig ist. Auch im Immuserum findet man nebst dem thermolabilen β -Agglutinin noch einen thermostabilen Anteil: α -Agglutinin. Durch Versuche, die hier weiter nicht angeführt werden sollen, ließen sich ferner verschiedene Aviditätsverhältnisse zwischen den die agglutinierbare Substanz und das Agglutinin zusammensetzenden Substanzen nachweisen, und des weiteren, daß die mit abgetöteten Kulturen gewonnenen Typhusimmunsera nur β -Agglutinin enthalten, während bei der Immunisierung mit lebenden Kulturen im Serum sich beide Substanzen, α -Agglutinin und β -Agglutinin, vorfinden. Wenn sich auch diese Angaben von Joos bestätigen lassen, so bekamen

wir oft Agglutinationsresultate, die mit denen des Autors nicht übereinstimmen. Es ist daher wahrscheinlich, daß der Bau des Agglutinins und der agglutinierbaren Substanz ein viel komplizierterer ist und daß die Komponenten letzterer voneinander nicht scharf zu trennen sind. Es sind dies Fragen, die hier nur kurz erwähnt werden sollen; in einer demnächst aus dem Institute erscheinenden Arbeit von Kraus und Joachim werden sie ausführlich erörtert werden.

Wenden wir uns nun der Frage der Spezifität der Agglutination zu. Dadurch, daß man mit einem Typhusimmunserum beispielsweise eine Reihe von anderen dem Typhusbacillus nahestehenden Stämmen in ge-
 reichten Verdünnungen zu agglutinieren vermag, könnte man ja den Anschein erwecken, als handle es sich hier überhaupt nicht um eine streng spezifische biologische Methode des Nachweises des Typhusbacillus. Und die Einführung des Terminus „Gruppenagglutination“ bringt ja direkt die Beeinflussung der zu einer Gruppe vereinigten Bakterienstämme durch ein mit einem dieser Stämme gewonnenes Immunserum zum Ausdruck. Sind wir dann aber noch im stande, eine Serodiagnose der Bakterien durchzuführen? Eine Differenzierung und Trennung der Bakterienstämme kann dann nur auf Grund eines die gesamte Immunitätslehre beherrschenden Prinzips vorgenommen werden, nämlich durch die genaue Berücksichtigung exakter quantitativer Verhältnisse. So wie man auf Grund quantitativer Austitrierung des normalen Pferdeserums schon das Antistaphylolysin vom Antitetanolylin zu trennen vermag, so gelingt es auch bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse das *B. typhi* vom *B. paratyphi*, vom *B. coli* etc., den *Vibrio cholerae* vom *Vibrio Metschnikoff*, den *Staphylococcus* vom *Streptococcus* zu trennen. Man muß aber natürlich, falls man zu exakten Resultaten kommen will, sich auch zunächst der Brauchbarkeit des Reagens, also in unserem Falle der Brauchbarkeit des Immunserums vergewissern. Letzteres stellt aber keinen einheitlichen Körper dar, sondern setzt sich aus einer oft großen Zahl von Partialagglutininen (Haupt- und Nebenagglutininen) zusammen, die in ihren gegenseitigen quantitativen Verhältnissen die größten Verschiedenheiten aufweisen können. Ferner können die Immunsere nicht nur bezüglich ihrer Titres, sondern auch ihres Gehaltes an Agglutinoiden etc. sich ungleich verhalten. Aber auch der zweite bei der Agglutination in Betracht kommende Faktor — die agglutinierbare Substanz — zeigt gewisse Modifikationen je nach der Virulenz und dem Alter des Stammes, je nach dem verwendeten Nährboden, ja zum Teil auch je nach dem verwendeten Typhusstamm. Die Agglutination erscheint daher als ein komplizierter Vorgang, der nur bei Berücksichtigung aller oben angeführten Momente zu einer richtigen Beurteilung der Spezifität dieser biologischen Reaktion führt. Wenn auch die bis jetzt erörterten Momente vorläufig für die am besten studierte Agglutination des Typhusbacillus Geltung besitzen, so werden sie höchst wahrscheinlich bei weiterer Forschung sich auch auf die Agglutination anderer Bakterien (z. B. Streptokokkenagglutination, Differenzierung des *V. cholerae* von Vibrionen etc.) ausdehnen lassen.

Der spezifische Charakter der Agglutination erleidet auch durch einen in letzter Zeit von Stern mitgeteilten Fall von Beeinflussung von Typhusbacillen durch ein Proteusimmunserum keinen Abbruch. In zahlreichen eigenen Versuchen, welche uns über die Beeinflussung fremd-
 artiger Stämme durch Immunsere aufklären sollten, konnten wir eine Agglutination von mehreren Proteus-, Staphylokokken-, Streptokokkenstäm-

men, ferner von Vibrionen etc. mit Typhus- („Elsa“, „Edgar“, „Zoroaster“) und Choleraimmunseris („Diana“, „Edith“) nicht wahrnehmen oder nur die schon im normalen Pferdeserum für einzelne Bakterien vorhandenen Agglutininwerte. Der Befund Sterns beweist nur, daß der betreffende Proteus-Stamm mit dem verwendeten Typhusstamm eine Gemeinsamkeit gewisser Bestandteile des Bakterienprotoplasmas besitzt; daß das Proteusimmunserum den Typhusbacillus agglutiniert, kommt ferner auch auf Rechnung des serumspendenden Tieres (Kaninchen) und es wäre von Interesse zu erfahren, einmal ob bei Verwendung anderer Tierarten und ferner bei Benützung zahlreicher anderer Typhusstämme sich dieselben Befunde erheben lassen. Man wird daher aus einer von Stern angekündigten Mitteilung zu entnehmen haben, ob der mitgeteilte Fall als ein einzeln dastehender Befund aufzufassen ist, oder ob die Sternsche Ansicht, daß die in der Gemeinsamkeit der Bestandteile des Bakterienprotoplasmas begründete „Verwandtschaft“ der Bakterien sich mit der üblichen, auf morphologischen und kulturellen Eigenschaften beruhenden „Gruppeneinteilung“ desselben nicht deckt, zu Recht besteht.

Meine Untersuchungen gestatten demnach folgende Schlußfolgerungen:

1) Der v. Drigalski-Conradische Nährboden bietet eine bedeutende Vereinfachung für die Züchtung der Typhusbacillen aus Faeces, Harn etc. dar; das charakteristische Verhalten des Typhusbacillus auf diesem Nährboden und die Identifizierung der verdächtigen Kolonien mittels Agglutination bei Verwendung niederer Verdünnungen liefern jedoch keine Gewähr für die Richtigkeit der bakteriologischen Diagnose und machen eine weitere ausgedehnte kulturelle Untersuchung nicht überflüssig.

2) Es empfiehlt sich, nach dem Vorschlage Wassermanns, bei der Bestimmung der verdächtigen Kolonien mittels Agglutination stets sogenannte „Endverdünnungen“ zu benützen. Besteht der Verdacht auf Paratyphus (oder Dysenterie), so muß die Agglutination der betreffenden Kolonien auch mit Paratyphusimmunserum (oder Dysenterieimmunserum) vorgenommen werden.

3) Agglutinin und agglutinierbare Substanz stellen nicht Körper von stets konstanter Zusammensetzung und Beschaffenheit dar; sie zeigen vielmehr, als biologische Produkte, innerhalb gewisser Grenzen schwankende Unterschiede, die zur richtigen Beurteilung des Agglutinationsresultates in jedem Falle Berücksichtigung verdienen.

4) Die „Hemmung“ bei der Agglutination mit Typhus- (resp. Coli-) immunserum hängt sowohl von der Beschaffenheit des Immunserums als auch von der des verwendeten Bakterienstammes (Typhus oder Coli) ab.

Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Prof. Paltauf und Herrn Dozenten Kraus für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse herzlichst zu danken.

Literatur.

- v. Drigalski und Conradi, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX.
 Conradi, v. Drigalski und Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.
 Bruns und Kayser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII.
 Sternberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV.
 Schottmüller, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.
 Klinger, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII.
 Beco, zitiert nach Sternberg.
 Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1901.
 Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.
 Pfeiffer und Kolle, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI.
 Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV.

Miller, B. D. Klin. med. Wochenschr. 1903.
 J. B. Williams, Journ. Hyg. 1903.
 Rosenburg and V. A. Gerson, Journ. Hyg. 1903.
 V. A. Gerson, Journ. Hyg. 1903.
 L. Wacker, Journ. Hyg. 1903.
 J. B. Williams, Journ. Hyg. 1903.
 J. B. Williams, Journ. Hyg. 1903.

Anmerkung bei der Korrektur: Nach Ansicht meiner Untersuchungen
 ersehen die Autoren von Paul, Krause und Georg Steiner, Journ. Hyg.
 Bd. XLV. Obgleich die Autoren an einem viel gebrauchten Material, als es nur die Art
 fäulnis sind, die Untersuchungen anstellten, haben sie in uns nicht zu einer
 überaus wichtigen Erkenntnis.

Neudruck 1903

A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application.

[From the Laboratories of St. Bartholomew's Hospital, London.]

By

F. W. Andrewes, M.A. M.D. (Oxon) and **K. J. P. Orton, M.A. (Cantab.)**
 F.R.C.P. (Lond.) Ph.D. (Heid.), F.C.S.

Lecturer on Pathology, and Pathologist
 in St. Bartholomew's Hospital, London.

Professor of Chemistry in the University
 of Wales, late Assistant Lecturer on Che-
 mistry in St. Bartholomew's Hospital,
 London.

(Schluß.)

It would be a great advantage if a mixture could be found, of equal
 value as a germicide, yet free from staining properties, and this we
 believe that we have found in a combination of hydrochloric acid with
 ammonium persulphate $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$.

The germicidal value of ammonium persulphate, by itself, was tested
 some years ago by L. Wacker (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. p. 603).
 He found that, in its action upon non-sporing bacteria, it was slightly
 superior to carbolic acid.

The persulphates were not overlooked by Krönig and Paul amongst
 the oxidizing agents which they tested in combination with hydrochloric
 acid (loc. cit. p. 75). They found that a solution, containing 3.1% of
 potassium persulphate and 1.83% of HCl gas, did not completely destroy
 anthrax spores in 30 minutes. In their experiments it therefore fell far
 short of the corresponding mixture of KMnO_4 and HCl.

In contrasting ammonium persulphate with potassium permanganate
 as an oxidizing agent upon hydrochloric acid, we took as our standard
 the permanganate mixture recommended for the practical disinfection of
 the hands by Krönig and Paul. The exact solution we used contained

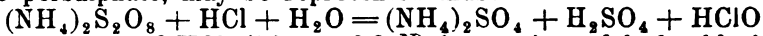
KMnO_4	1.0 gramme
HCl aq. fort.	1.1 cc
Aq. destill.	98.9 cc

In oxygen-yielding power, 1 g KMnO_4 is equal to 3.7 g $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$.
 The corresponding persulphate mixture which we employed was therefore
 made up as follows,

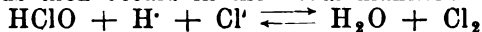
$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	3.7 gramme
HCl aq. fort.	1.1 cc
Aq. destill.	95.9 cc.

In both cases the salt was first dissolved in the water, and the hydrochloric acid subsequently added. When we speak of the "acid permanganate mixture" and the "acid persulphate mixture" we refer to solutions made up in these relative strengths, which are exactly comparable.

We find that there is a great difference in the rate at which the two salts part with their oxygen. The permanganate parts with it very rapidly, the persulphate comparatively slowly. This leads to important differences between the two mixtures, though in both cases oxidation of the hydrochloric acid occurs. On the supposition that the conversion of the chloride into hypochlorite takes place first, the reaction, in the case of the persulphate, may be represented thus:



In the presence of HCl (1% = 0,3 N) interaction of hydrochloric and hypochlorous acids then occurs in the usual manner:



But little HClO can be actually present at any one time in the presence of the amount of HCl used in these mixtures, and the amount is not sufficient to set up an equilibrium according to the first equation. Consequently the amount of chlorine slowly increases in the solution.

With the permanganate the rate of production of hypochlorous acid, and therefore of chlorine, is very much greater than with the persulphate. Accordingly, whereas the acid permanganate mixture attains its maximum disinfectant activity in a few minutes, that of the acid persulphate mixture slowly, but progressively, increases with the concentration of the chlorine. Even after many weeks' keeping, the amount of chlorine (and hypochlorous acid) present in the acid persulphate mixture only amounts to 0,008%. In the acid permanganate mixture it was impossible to estimate the chlorine, but even after a few hours a large amount had obviously been formed.

If 1% of strong aqueous hydrochloric acid be added to a 1% solution of potassium permanganate, the mixture smells strongly, in a minute or two, of free chlorine. We have tested the mixture upon anthrax spores within 15 minutes of its preparation, and found that it has already attained its full germicidal activity, killing them in less than 30 seconds. The corresponding acid persulphate mixture is at first absolutely odourless, but in half an hour or so it has an extremely faint chlorous odour. Hour by hour its smell increases in intensity till, after 3 or 4 days, at the ordinary temperature of the air, it is very strong indeed. But the smell is that of hypochlorous acid rather than that of free chlorine. In accordance with this tardy development of the solution we have found that its disinfectant value is small when first prepared. When it is four hours old it will not kill anthrax spores in 30 minutes. When two days old it kills them in between 4 and 8 minutes; when six days old, in less than 1 minute. Inasmuch as hypochlorous acid and not chlorine is, in our view, the actual germicidal agent, we may suppose that the stock of hypochlorous acid (and chlorine) in the mixtures is replenished on the one hand rapidly, by the hydrolysis of the chlorine ($\text{Cl}_2 \text{ aq.} \rightleftharpoons \text{HClO} + \text{H} + \text{Cl}'$), and on the other hand by the slow oxidation of the hydrochloric acid.

Our experiments thus indicate that a 3,7% solution of ammonium persulphate, mixed with 1% of strong aqueous HCl, becomes practically equal in germicidal power to Krönig and Paul's corresponding 1% permanganate mixture when it has been made up for several days.

Kept at a higher temperature than that of the air it would of course "ripen" more rapidly. In Krönig and Paul's series of experiments it took an inferior position because it was their practice to use freshly prepared solutions. They expressly say „Die Lösungen mußten stets frisch bereitet werden, da sie bei längerem Stehen sehr leicht der Zersetzung unterworfen sind, und dann bedeutend stärker desinfizieren.“

While thus practically equal to the acid permanganate mixture as a germicide (for the difference between 30 and 60 seconds, in the time taken to kill anthrax spores, is one almost negligible), the acid persulphate mixture has the great advantage that it is colourless, transparent and totally devoid of any staining power. It is also much more stable and can thus be kept longer: after a few days the acid permanganate mixture becomes, to all intents and purposes, a moderately strong solution of chlorine.

Moreover there is one important respect in which the acid persulphate mixture is much the superior of the other. Like pure hypochlorous acid, both mixtures act at a great disadvantage in presence of organic matter, and are unsuited for the disinfection of material containing an excess of this. But because the persulphate parts with its oxygen less rapidly than the permanganate, it is less intensely affected by the presence of organic matter, so that the persulphate mixture is considerably the more effective of the two in the presence of moderate amounts of albuminous material. This is shown by the following experiment in which the restraining affect of the mixtures was tested upon *Staphylococcus pyogenes aureus*.

We took three series of sterile bouillon tubes each containing exactly 10 cc of bouillon made from the flesh of a calf only two weeks old and containing much gelatinous organic matter, in addition to 1% of Witte's peptone. We added to the tubes increasing amounts of the acid permanganate and persulphate mixtures, as shown in the table, and to the third series, as a control, similar amounts of a 3.7% solution of ammonium persulphate without any HCl. Every tube was then inoculated with two drops of a recent bouillon culture of *Staphylococcus aureus*, and they were incubated at 37° C, with the following result.

Table showing restraining effect of KMnO_4 & $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ mixtures upon *Staphylococcus aureus*.

Amount of disinfectant added to 10 cc bouillon	Acid permanganate mixture	Acid persulphate mixture	Persulphate alone without HCl
0,2 cc	++	++	++
0,4 "	++	0	+
0,6 "	++	0	+
0,8 "	++	0	? +
1,0 "	++	0	0
1,2 "	++	0	0
2,0 "	+	0	0

As before ++ = vigorous growth in 24 hours.

+ = delayed growth.

0 = no growth.

It is evident from this experiment, that the acid persulphate mixture is far more effective in the presence of a moderate amount of proteid, such as is contained in rich veal bouillon, than the corresponding permanganate mixture. The complete decomposition even of 2 cc of the latter mixture was evident to the eye as one added it to the bouillon.

The last column in the table makes it clear that the restraining effect of the persulphate mixture was not due to the persulphate alone.

The chemical reason for this important difference between the two mixtures is probably as follows. In both cases the chlorine and hypochlorous acid are instantaneously removed by the organic matter. The permanganate is also immediately destroyed, a deposit of manganese dioxide being formed. The persulphate, on the contrary, remains largely intact, and inhibits growth, partly no doubt in virtue of its own restraining power, but partly because it continues slowly to hand over its oxygen to the free Cl ions, which, as they are formed throughout the solution, have an equal chance of attacking the bacteria and the lifeless organic matter.

A few words may be added, in conclusion, as to the practical field of utility of the acid persulphate mixture which we recommend in this paper.

Its chief use appears to us to lie in the disinfection of the skin. One of us first tested it upon his own hands. They were well scrubbed with soap, hot water and a sterile nail-brush, then soaked for five minutes in the acid persulphate solution, finally rinsed in sterile water and dried on a sterilized towel. Cultures were then taken from scrapings beneath the nails and about their roots; these proved absolutely sterile on incubation. The mixture appeared quite harmless to the hands.

Mr. Bruce Clarke, Surgeon to St. Bartholomew's Hospital, was then kind enough to test it for us as a routine disinfectant at operations, in order to ascertain whether there were any objection to its use which we had not foreseen. One such objection was at once apparent, though one not difficult to avoid. The mixture forms, with blood, a brownish-black precipitate which remains about the nails and folds of the skin, and is very difficult to remove. With a little care in removing all blood from the hands before immersing them in the mixture this objection may be avoided. In other respects Mr. Bruce Clarke reported to us favourably of the mixture. The only matter that requires longer experience is its effect upon the skin when used frequently. On one occasion Mr. Bruce Clarke had some eczema after it, but this was an exception. It never, in two month's use, produced any injurious effect upon the hands of his chief assistant. It is probable that, as with other powerful skin disinfectants, individuals will be found susceptible to it.

In the light of our experience the acid persulphate mixture appears well worthy of trial as a skin disinfectant for surgical use. If, in the strength we have used, it is found to produce any harmful effect on the hands, it might be used in half this strength, which would still give a high germicidal value. The mixture seems to have the advantages of Krönig and Paul's acid permanganate mixture without its disadvantages. But it must be made up several days before it is required for use; a stock sufficient to last for some weeks can be made up at one time. Its odour is a sufficient index of its germicidal power.

It of course blackens and spoils metal instruments, with which it should never be brought in contact. But there is a field for the use of the acid persulphate mixture which, we venture to think may prove of value, namely the sterilization of marine sponges. Most surgeons would prefer real sponges to artificial substitutes, could they ensure their sterility. The mixture we recommend seems well fitted to ensure it. What is required is a germicidal solution of very high activity, which

is not too unstable and which will not injure the sponge. Strong bleaching powder solutions disintegrate sponges immediately; chlorine water is too unstable; the acid permanganate mixture blackens the sponges. But the acid persulphate mixture bleaches, instead of blackening them, and a few hours' immersion in it, after thorough mechanical cleansing of the sponge, should produce absolute sterilization. Such an immersion, and indeed several days' immersion, does not seem to injure the texture and elasticity of sponges. Nevertheless they cannot be stored indefinitely in the acid persulphate mixture; after two or three weeks they become softened and break up.

Other uses may be found for this mixture, but the above appear to us the most obvious. We recommend the combination of ammonium persulphate with hydrochloric acid as a cheap, cleanly and effective means of utilizing the intense germicidal activities of hypochlorous acid.

As regards cost it may be remarked that, at the present price of ammonium persulphate, 12 litres of the mixture with which we have worked can be prepared for about 3 marks.

It is hardly necessary to add that, as in the case of other chlorous combinations, the acid persulphate mixture must be used by itself. It cannot be combined with the majority of other disinfectants.

Summary.

1) We have shown that the germicidal power of pure hypochlorous acid, in absence of organic matter, is of the most intense kind. Fully exposed anthrax spores are killed by a 0,01% solution in one minute. In a strength of 0,001% it kills *Staphylococcus pyogenes aureus* in one minute, and in a strength of 0,0004% it kills *Bacillus coli communis* in one minute. In presence of organic matter the pure acid is comparatively inert.

2) We have attempted to show that, in those disinfectant mixtures in which chlorine has been believed to be the sole active agent, this rôle may with more probability be ascribed largely to hypochlorous acid. Such experimental evidence as we have been able to obtain has been in favour of such a view.

3) Amongst the combinations of hydrochloric acid with an oxidizing agent, we have drawn special attention to the mixture of the acid with ammonium persulphate, which we have contrasted with the corresponding permanganate mixture recommended by Krönig and Paul. We claim that, when the acid persulphate mixture has been made up a few days, it becomes practically the equal of the acid permanganate mixture in disinfectant power, and in presence of a moderate amount of organic matter actually its superior. It has the further advantages of greater stability and absence of staining properties. We regard this combination as likely to prove of conspicuous service in skin disinfection and in the sterilization of sponges.

St. Bartholomew's Hospital, London, August 1903.

Berichtigung.

In meinem Aufsatz Bd. XXXV. No. 4. p. 460. Abschnitt 2. Zeile 2 ist zu lesen „Meerschweinchen . . . erliegen . . . innerhalb 20 Stunden“ anstatt 10 Stunden.
Dr. E. Klein (London).

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

Inhalt.

Andrewes, F. W. and Orton, K. J. P., A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application. (Schluß.), p. 811.
Barratt, J. O. Wakelin, Centrifugalsation and disintegration in relation to the virus of Rabies. (Schluß.), p. 769.
Bertarelli, E. u. Volpino, G., Nachforschungen und experimentelle Beobachtungen über die Wutkrankheit, p. 729.
Djatschenko, E., Zur Frage über den Erreger der toxämischen Hämoglobinurie bei dem Vieh in Kuban (Rußland), p. 727.
v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach Robert Koch, p. 776.
Fermi, Claudio u. Bassu, E., Untersuchungen über die Anaërobiosis. (Schluß.), p. 714.
Fuhrmann, O., Die Tetrabothrien der Säugetiere, p. 744.
Ghon, Anton u. Sachs, Milan, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen, p. 665.

Jancsó, Nikolaus, Ergebnisse betreffend die Bedeutung der Milz- und Venenpunktion bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis. (Schluß.), p. 762.
Kamen, Ludwig, Zur Aetiologie der Gasphlegmone. (Schluß.), p. 686.
Krause, Paul, Einige bakteriologische Untersuchungen beim Erysipel, p. 723.
Lipschütz, E., Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination, p. 798.
v. Löte, Joseph, Beiträge zur Kenntnis der experimentellen Lyssa der Vögel, p. 741.
Looss, A., Zum Bau des erwachsenen Ancylostomum duodenale, p. 752.
Preiss, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). (Schluß.), p. 657.

Berichtigung, p. 816.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXXV enthaltenen Arbeiten.

- Abbott, A. C. and Gildersleeve, N.**, On the branching occasionally exhibited by *Bacillus diphtheriae*. 273
- Andrewes, F. W. and Orton, K. J. P.**, A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application. 645. 811
- Bajardi, A.**, Die *Streptothrix lingualis* (Syn. *Vibrio Spirosoma linguale*) im Munde der Gesunden und der Diphtherischen. 129
- Bail, O. und Pettersson, A.**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. 102. 247
- Bandl, J.**, Gelbfieber und Mosquitos. 323
- Barratt, J. O. W.**, Centrifugalisation and disintegration in relation to the virus of Rabies. 633. 769
- Bassu, E.** siehe **Fermi, Cl.**
- Behrens** siehe **Rievel.**
- Bertarelli, E. und Volpino, G.**, Morphologische und biologische Beobachtungen über einen Fall von Wutkrankheit beim Menschen, mit besonderer Rücksicht auf die Gegenwart und Verteilung der Negrischen Körperchen im Zentralnervensystem. 221
- — — Nachforschungen und experimentelle Beobachtungen über die Wutkrankheit. 728
- Bettencourt, A., Kopke, A., de Rezende, G. und Mendes, C.**, Ueber die Aetiologie der Schlafkrankheit. 45. 212. 316
- Bongert, J.**, Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der großen Haustiere. 14. 168
- Bonhoff, H.**, Erwiderung auf die Bemerkungen der Herren Albrecht und Ghon zu meiner Notiz: „Zum Streit um den Meningococcus“. 440
- Calamida, D.**, Beitrag zum Studium der Natur der Hühnerseuchen. 37
- — — Das Hämolyisin des *Bacillus* der Hühnercholera. 618
- Carlo, G. G.**, Neue Beobachtungen über das desinfizierende Vermögen der Wandanstriche. 111
- Castellani, A.**, Die Aetiologie der Schlafkrankheit der Neger. 62
- Centanni, E.**, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. 91. 239. 362
- Djatschenko, E.**, Zur Frage vom Erreger der toxischen Hämoglobinurie bei dem Vieh in Kuban (Rußland). 727
- Dilg, C.**, Untersuchungen über die verschiedenen Sedimentierverfahren zum Nachweise von Tuberkelbacillen. 387
- Drigalski, v.**, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach Robert Koch. 776
- Dschunkowsky, E. und Luhs, J.**, Die Piroplasmosen der Rinder. 486
- Eljkmán, C.**, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. 1
- Endo, S.**, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. 109
- Engels**, Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz „Ueber die Trinkwasserdesinfektion mit Jod nach Vaillard von Gust. Obermaier, Militärapotheker“. 506
- Fermi, Cl. und Bassu, E.**, Untersuchungen über die Anaërobiosis. 563. 714
- Fichtner**, Beiträge zur Züchtung des Influenzabacillus. 374
- Fischer, H.**, Ein einfaches Verfahren, Nähragar ohne Filtration zu klären. 527
- Fischoeder, F.**, Weitere Mitteilungen über Paramphistomiden der Säugetiere. 598
- Fuhrmann, O.**, Die Tetrabothrien der Säugetiere. 744
- Galli-Valerio, B.**, Notes de parasitologie. 81
- Ghon, A. und Preyss, W. v.**, Studien zur Biologie des Influenzabacillus. 531
- und **Sachs, M.**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Menschen. II. 665
- Gildersleeve, N.** siehe **Abbott, A. C.**
- Gordon, M. H.**, Notiz über die Anwendung des Neutralrotes (Rothberger) zur Differenzierung von Streptokokken. 271
- Gordon, M.** siehe **Klein, E.**
- Grawitz, E.**, Bemerkungen zu dem Artikel über „Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung“ von Moritz Silberstein in No. 1 dieses Bandes vom 5. Nov. 1903. 593
- Harz, C. O.**, Pomeranzenfarbiger Schweiß. 153
- Hektoen, L.**, Die Wirkung gewisser ionisierbarer Salze auf die Lysine im menschlichen Serum. 357
- Hesse, W.**, Ein neuer elektiver Nährboden für Auswurf-tuberkelbacillen. 384
- Ignatowsky, A.**, Zur Frage vom Verhalten verschiedener Gewebe des tierischen Organismus gegen das Tetanusgift. 4

- Jaeger, H.**, Das Agglutinoskop, ein Apparat zur Erleichterung der mikroskopischen Beobachtung der Agglutination im Reagenzglas. 521
- Jancsó, N.**, Ergebnisse betreffend die Bedeutung der Milz- und Venenpunktion bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis. 627. 762
- Kamen, L.**, Weiterer Beitrag zur Lokalisation der Influenza an den Tonsillen. 150
—, Zur Actiologie der Gasphegmonie. 554. 686
- Kayser, H.**, Die Bakteriologie des Paratyphus. 154
- Kedrowski, W. J.**, Experimentelle Erfahrungen über Lepraempfindungen bei Tieren. 368
- Klein, E.**, Ein neuer tierpathogener Mikrobe — *Bacillus carnis*. 459
— und **Gordon, M.**, Ueber die Herkunft einer Rosahefe. 138
- Koeh, E.**, Ueber die bakterizide Wirkung des Wismutnitrates und des Bismon (kolloidalen Wismutoxydes). 640
- Konrád, D.**, Typhus-bacillen im Brunnenwasser. 568
- Kopke, A.** siehe **Bettencourt, A.**
- Krause, P.**, Einige bakteriologische Untersuchungen beim Erysipel. 723
- Kupzisz, D.**, Die Desinfektionsmittel aus der russischen Naphtha. 263
- Langstein, L.** und **Mayer, M.**, Versuche von Bakterienzüchtung in einer nativen Mucoidlösung. 270
- Ledingham, J. C. G.** siehe **Marehand, F.**
- Liedke, A.**, Ueber die Desinfektion mit Karboformalglühblocks. 651
- Lignières, J. et Spitz, G.**, Contribution à l'étude à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose. 294. 452
- Lingard, A.**, The giant Trypanosoma discovered in the blood of bovines. 252
- Linstow, J. v.**, Neue Helminthen. 352
- Lipschütz, B.**, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination. 798
- Lode, A.**, Versuche, die optische Lichtintensität bei Leuchtbakterien zu bestimmen. 524
- Loeffler, F.**, Robert Koch. Zum 60. Geburtstag. 401
- Löte, J. v.**, Beiträge zur Kenntnis der experimentellen Lyssa der Vögel. 741
- Looss, A.**, Einige Bemerkungen zu Pieris „kurzer Erwiderng“ etc. 602
—, Zum Bau des erwachsenen Ancylostomum duodenale. 752
- Luerssen, A.**, Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus. 434
- Luchs, J.** siehe **Dschunkowsky, E.**
- Maefadyen, A.** und **Rowland, S.**, Ueber die intracellulären Toxine gewisser Mikroorganismen. 415
- Marehand, F.** und **Ledingham, J. C. G.**, Zur Frage der Trypanosomainfektion beim Menschen. 594
- Mayer, M.** siehe **Langstein, L.**
- Mendes, C.** siehe **Bettencourt, A.**
- Mereshkowsky, S. S.**, Versuche, die Mäuse mittels des von mir aus Zieselmäusen ausgeschiedenen Bacillus in Scheunen und Schobern zu vertilgen. 25
- Mezincesen, D.**, Ueber ein Eiterspirillum. 201
- Morgenroth, J.**, Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren. 501
- Murata, N.**, Ueber die Schutzimpfung gegen Cholera. 605
- Murillo, F.**, Ueber die Diphtherietoxinkurve. 203
- Nagelschmidt, F.**, Gibt es latente Präzipitine? 622
- Nelde, E.**, Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose, in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gramfärbung in Betracht kommenden Faktoren. 508
- Novy, F. G.**, Einige Laboratoriumsapparate. 124
- Oldekop, A.**, Eine Modifikation des Rothberger-Schefflerschen Neutralrot Nährbodens. 120
- Orton, K. J. P.** siehe **Andrewes, F. W.**
- Ottolenghi, D.**, Ueber die feinere Struktur des Milzbrandbacillus. 516
- Petrie, G. F.**, A note on the occurrence of a Trypanosoma in the rabbit. 484
- Petersson, A.** siehe **Bail, O.**
- Plehn, M.**, Bacterium cyprinica nov. spec., der Erreger der Rotseuche der karpfenartigen Fische. 461
- Preiss, W. v.** siehe **Ghon, A.**
- Preiszl, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bakterien). 280. 416. 537. 657
- de Rezende, G.** siehe **Bettencourt, A.**
- Rievel und Behrens**, Beiträge zur Kenntnis der Sarcosporidien und deren Enzyme. 341
- Rowland, S.** siehe **Maefadyen, A.**
- Sachs, M.** siehe **Ghon, A.**
- Schittenhelm, A.** und **Schröter, F.**, Gasbildung und Gasatmung von Bakterien. 146
- Schröter, F.** siehe **Schittenhelm, A.**
- Schwoner, J.**, Ueber die hämolytische Wirkung des Loefflerschen Bacillus. 608
- Selter, H.**, Ueber ein rotzähnliches Bacterium beim Menschen. 529

- Silberstein, M.**, Die basophilen Körnungen im Blute Malariakranker und ihre Bedeutung. 68
- Simon, F. B.**, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. 308. 440
- Sleeswijk, R.**, Bemerkung zum Artikel: Deutungsversuch der Eigenschaften und Wirkungsweise der Immunkörper von Prof. Dr. H. Zangger. 621
- Spitz, G.** siehe **Lignières, J.**
- Steiger, P.**, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege. 326. 467. 574
- Sweet, J. E.**, The reactions of the blood in experimental diabetes mellitus. A contribution to our knowledge of the thermolabile complements. First contribution. 259
- Swellengrebel, N.**, Ueber Toxone. 42
- Taniguchi, N.**, Ueber *Filaria Brankrofti* Cobb. 492
- Uhlmann, O.**, Der Bakteriengehalt des Zitizkanales (*Ductus papillaris*) bei der Kuh, der Ziege und dem Schafe. 224
- Volpino, G.** siehe **Bertarelli, E.**
- Wehmer, C.**, Der *Aspergillus* des Tokelau. 140

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Actinobacillus*, Eigenschaften. 454
- Actinomyces*, Bedeutung der dichotomen Fäden. 296
- *bovis*, Eigenschaften. 298
- , Verschiedenheit von der Gruppe der Tuberkelbacillen. 296
- Agglutinoskop. 521
- Anaeroben, Kritik der Kulturmethoden. 565. 714
- , Neue Kulturmethoden. 718
- Ankylostoma duodenale*, Bau des erwachsenen Tieres. 752
- , Verhalten gegen Natriumbisulfat. 90
- , Infektion durch die Haut. 602
- Anopheles Lutzii*, Oocysten. 85
- Aspergillus tokelau* Wehmer, Beschreibung. 140
- Autozytopräzipitine, Bedingungen des Auftretens. 244. 362
- , Fällung durch Gewebeerextrakt. 95
- , Fällung durch Verdünnung. 94
- , nichtspezifische Charaktere. 96
- , physikalische und chemische Eigenschaften. 239
- , Spezifität. 97
- , Verhältnis zur Blutgerinnung. 100
- , Vorkommen. 91
- Bacillus aërogenes* bei Mastitis der Kühe. 475
- *alvei*, Färbung nach Gram. 517
- *anthracoides*, Abscheidung eines elastinlösenden Enzyms. 2
- *carnis* E. Klein, Eigenschaften. 459
- *carotum*, Färbung nach Gram. 509
- *cholerae gallinarum*, Hämolyisin. 618
- *cohaerens*, Färbung nach Gram. 514
- *ellenbachensis*, Färbung nach Gram. 510
- *enteritidis*, intracelluläre Toxine. 416
- *fluorescens liquefaciens*, Abscheidung eines elastinlösenden Enzyms. 2
- *fusiformis*, Färbung nach Gram. 511
- *lacticola*, Färbung nach Gram. 520
- *lactis*, Färbung nach Gram. 511
- *megatherium*, Färbung nach Gram. 511
- *parvus*, Färbung nach Gram. 511
- *pyocyaneus*, Abscheidung eines elastinlösenden Enzyms. 2
- Bacillus pyocyaneus*, Färbung nach Gram. 519
- , Verhalten gegen Bismon. 642
- , Verhalten gegen Wismutsnitrat. 641
- *robur*, Färbung nach Gram. 510
- *ruminatus*, Färbung nach Gram. 510
- *septicaemiae haemorrhagicae*, Färbung nach Gram. 519
- *silvaticus*, Färbung nach Gram. 511
- *sphaericus*, Färbung nach Gram. 511
- *subtilis*, Färbung nach Gram. 510
- *tumescens*, Färbung nach Gram. 510
- von Mereshkowsky zur Mäuseverteilung. 25
- Bacterium auratum* Harz als Erreger von pomeranzenfarbenem Schweiß. 153
- *coli commune*, Färbung nach Gram. 519
- , Verhalten gegen Bismon. 642
- , Verhalten gegen desinfizierende Wandanstriche. 114
- , Verhalten gegen Wismutsnitrat. 642
- *cyprinica* Plehn als Ursache der Rotseuche der Karpfen. 461
- Bismon, bakterizide Wirkung. 640
- Bodo lacertae* in *Lacerta vivipara*. 86
- Bothriocephalus latus* beim Hund. 87
- *monorchis* v. Linst. in *Orthagoriscus mole*. 356
- Cercomonas* in einer Krebsgeschwulst. 86
- Cholera, Schutzimpfungen. 605
- Cholera vibrionen, Verhalten gegen desinfizierende Wandanstriche. 114
- Colibacillen bei Mastitis der Kühe. 473
- Deckglaszange. 127
- Desinfektionsmittel aus der russischen Naphtha. 263
- Diabetes mellitus experimenteller, Blutreaktion. 259
- Diphtheriebacillen, Beziehung der Verzweigung zur Mycelbildung. 275
- , Grund der Entstehung der Verzweigung. 277
- , hämolytische Wirkungen. 608
- , intracelluläre Toxine. 416

Diphtheriebacillen, Konstanz der Verzweigung.	273	Influenzabacillen in den Tonsillen.	150
Diphtherietoxin, Bildung in den Kulturen.	203	—, Kulturversuche.	374. 434. 531
Dipterenlarven beim Menschen.	90	Karboformalglühblock, Desinfektionswirkung.	651
Distomum lymphaticum v. Linst. in Mustelus vulgaris.	353	Koch Robert, Biographie.	401
Enzym elastinlösendes bei Bakterien.	1	Körnungen basophile im Blute bei Malaria.	68
Erysipel, Infektiosität der Schuppen.	723	Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren.	501
—, Keimfreiheit des Blutes.	725	Lepra, Impfungen auf Tiere.	368
—, Kokken im Harn.	724	Leuchtbakterien, Bestimmung der Lichtstärke.	524
Erysipelas bullosum, Untersuchung der Blasen.	726	Lysine im menschlichen Serum, Wirkung ionisierbarer Salze.	357
Erysipelbaracke, Luftuntersuchung.	726	Magen der Rinder. Bakteriengehalt.	583
Filaria Bancrofti, Bau und Lebensweise.	492	Malaria, basophile Körnungen im Blute.	593
— Blini Car. et Mar. identisch mit F. haemophila.	357	Mastitis der Kühe, Infektionsmöglichkeiten.	579
— haemophila v. Linst. in Bos bubalus.	352	— — —, Mischinfektionen.	481. 574
Filterapparate verbesserte.	126	— — — Haustiere, Einteilung.	326
Galactococcus fulvus bei Mastitis von Kuh und Ziege.	338. 339	Meningococcus, Hautbildung.	440
— versicolor bei Mastitis von Kühen.	338	Micrococcus melitensis, Kultur.	81
Galaktokokken, Unterschiede der Arten.	341. 467	Microsporium Audouini, Erkennung.	83
Gasbildung bei Bakterien.	146	Milzbrandbacillen, Abscheidung eines elastinlösenden Enzyms.	2
Gasbrand, verursachende Bakterien.	665	—, Bildung sekundärer Kolonien.	282
Gasphlegmone, Aetiologie.	554. 686	—, feinerer Bau.	286. 546
—, Literatur.	712	—, Formen in den sekundären Kolonien.	421
Gastrothylax Cobboldi, Vorkommen.	600	—, Kritik der säurefesten und metachromatischen Substanz.	539
— crumenifer, Vorkommen.	600	—, Kritik der Sporenbildung.	541. 657
— elongatus, Vorkommen.	600	—, Kritik des Kerns.	432. 537
— mancupatus, Vorkommen.	600	—, Lebensdauer.	14
— minutus, Vorkommen.	601	—, metachromatische Substanz in Trockenpräparaten.	417
Gelbfieber, Nichtübertragbarkeit durch Stegomyia fasciata.	323	—, Plasmapbildungen.	429
Gonococcus Neisseri, Färbung nach der Methode von Wahl.	82	—, säurefeste Körperchen.	292. 416
Gramfärbung als Speciesdiagnose.	508	—, Sporenbildung.	422
Hämoglobinurie der Rinder in Kuban, bakteriologische Untersuchungen.	727	—, Untersuchung in sehr verdünnten Farbstofflösungen.	289
Hefen in Symbiose mit Achorion und Trichophyton.	83	—, Tabellen über den Nachweis in faulenden Kadavern.	170
Hühnerseuche ohne auffindbaren Mikroorganismus.	38	—, Verhalten gegen Bismen.	643
Hühnersuchen, Literatur.	42	—, Verhalten gegen Wismutsubnitrat.	643
Hundswut, biologische Diagnostik.	730	—, Zellmembran.	428
—, Einfluß des Zentrifugierens auf das Toxin.	633. 769	Milzbrandbacillensporen, Bedingungen der Bildung in faulendem Material.	15. 168
—, Einfluß des Pulverisierens auf das Toxin.	771	Milzbrandimmunität beim Huhn, Erklärung.	102. 247
— experimentelle bei Vögeln.	741	Nähragar, Klärung ohne Filtration.	527
—, Filtration der Speicheldrüsen.	740	Nährmedien ovomukoidhaltige zur Bakterienzüchtung.	270
—, Filtration des Toxins.	733	Neutralrot zur Differenzierung von Streptokokken.	271
—, Versuche mit Nervensubstanz vom Menschen.	221	Neutralrotnährboden, Modifikation.	120
Hypnococcus als Ursache von Schlafkrankheit.	55	Paramphistomum bathycotyle, Vorkommen.	598
—, Giftabsonderung.	319	— bothriophoron, Vorkommen.	600
—, Morphologie und Kultur.	215	— calicophoron, Vorkommen.	600
—, Resistenz.	320	— cervi, Vorkommen.	598
—, Tierversuche.	218. 316	— cotylophorum, Vorkommen.	600
Immunität, physikalische Deutung.	621	— epicitium Fischeod., Beschreibung.	599
Influenzabacillen, Färbung nach Gram.	519	— explanatum, Bau.	599
		— liorchis, Vorkommen.	598

<i>Paramphistomum scoliocoelium</i> Fiscoed., Beschreibung.	599	Tetanusbacillen, Sporenbildung.	426
<i>Paratyphus</i> , Bakteriologie.	154	Tetanusgift, Entgiftung durch Organsub- stanzen.	158
—, Literatur.	157	—, Neutralisation durch gewisse Stoffe im Organismus.	161
Pestbacillen, Verhalten gegen desinzie- rende Wandanstriche.	114	— und Organextrakte, Wirkung auf Mäuse.	8
Pirop拉斯osen der Rinder in Rußland.	486	—, verschiedene Bindung an die Organe des Körpers.	163
Präzipitine, latentes Vorkommen.	622	—, Wirkung auf die Gewebe.	4
—, Literatur.	366	Tetraphothrius Forsteri, Bau.	745
<i>Pseudomonas</i> , Färbung nach Gram.	519	— triangularis, Bau.	748
<i>Pseudorotzbacillen</i> beim Menschen.	529	Thermoregulator verbesserter.	124
Rosahefe, Zusammenhang mit <i>Puccinia</i> <i>suaevolens</i> .	138	<i>Trichomonas caviae</i> , Fortpflanzung.	87
Sarkosporidien beim Lama, Giftstoffe.	344	<i>Trichosoma hepaticum</i> in <i>Mus decumanus</i> .	88
— — —, Morphologie.	342	Trinkwasserdesinfektion mit Jod.	506
Schlaffkrankheit, Ursache.	45. 62. 212. 316.	<i>Trypanosoma Castellani</i> Kruse als Ursache der Schlafkrankheit.	63
Seitenkettentheorie von Ehrlich, Modifika- tion.	42	— großes im Blut der Rinder.	252
<i>Spirillum</i> eitererzeugendes.	201	— in Kaninchen.	484
— volutans, Färbung nach Gram.	519	— in <i>Myoxus avellanarius</i> .	85
<i>Spirochaeta</i> Obermeieri, Färbung nach Gram.	519	Trypanosomen in der Milz beim Menschen.	594
— linguale siehe <i>Streptothrix lingualis</i> .		Tuberkelbacillen, elektiver Nährboden.	384
<i>Staphylococcus mastitidis</i> bei Mastitis von Kuh und Ziege.	335	—, intracelluläre Toxine.	416
— pyogenes aureus, intracelluläre Toxine.	415	—, Sedimentierverfahren zum Nachweis.	387
— — —, Verhalten gegen Bismion.	643	Typhus, Diagnose durch Milz- und Venen- punktion.	627. 762
— — —, Verhalten gegen desinfizierende Wandanstriche.	114	—, Ergebnisse der Bekämpfung in West- deutschland.	776
— — —, Verhalten gegen Wismuts- nitrat.	643	Typhusbacillen, Erkennung auf dem v. Dri- galski-Conradischen Nährboden und durch Agglutination.	798
<i>Streptococcus mastitidis contagiosae</i> bei Ma- stitis der Kühe.	468	—, Färbung nach Gram.	519
— — sporadicae bei Mastitis der Kühe.	469	—, Nachweis nach Endo.	109
— pyogenes, intracelluläre Toxine.	415	—, Verhalten gegen desinfizierende Wand- anstriche.	114
Streptokokken, Gifte.	308. 440	—, Vorkommen und Nachweis im Brunnen- wasser.	568
—, Gifte im Tierkörper.	440	Unterchlorige Säure, desinfizierende Wir- kung.	645. 811
—, Gifte in der Zelle selbst.	311	Wandanstriche desinfizierende, Wirkung.	112
<i>Streptothrix Israeli</i> , Eigenschaften.	304.	Wismutsnitrat, bakterizide Wirkung.	640
— <i>lingualis</i> , Biologie.	452	Zitzenkanal der Haustiere, Bakteriengehalt.	224
— —, Kultur.	135		
— —, Morphologie.	134		
— —, Vorkommen im Munde.	132		
Tetanusantitoxin, Wirkung im Körper.	129		
	10		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Agglutinoskop.	523	Diphtheriebacillen, Kurven der Toxinpro- duktion.	206—208
Anaëroben, Kulturapparat.	560	—, verzweigte Formen.	276
<i>Anopheles Lutzi</i> , Oocysten am Magen.	85	Dipterenlarven vom Menschen.	90
Apparat für Gasentwicklung bei Bakterien.	147	<i>Distomum lymphaticum</i> v. Linst.	354
<i>Aspergillus tokelau</i> Wehmer.	143	<i>Epibdella producta</i> v. Linst.	355
<i>Bacillus asterosporus</i> . (Taf. II, Fig. 248).	665	<i>Filaria Bancrofti</i> .	496
— neuer sporenbildender, Bau und Sporen- bildung. (Taf. II, Fig. 217—224.)	664	— <i>haemophila</i> v. Linst.	352
— <i>sessilis</i> . (Taf. II, Fig. 245—247.)	665	Filterapparat nach Novy. (Fig. 2.)	127
— <i>tumescens</i> . (Taf. II, Fig. 249, 250.)	665	<i>Gasbacillus</i> , Schnitte und Kulturen. (Taf. I —III.)	714
<i>Bacterium cyprinica</i> Plehn. (Taf.)	467	Gramfärbung, allmähliche Entfärbung der Bakterien durch Alkohol. (Taf.)	521
<i>Bothriocephalus monorchis</i> v. Linst.	356	Hundswut, mikroskopisches Bild des zen- trifurtierten Toxins.	636
Deckglaszunge nach Novy.	128		

Hypnococcus in Schnitten und Kulturen. (Taf.)	323	Spirillum bei Eiterung.	202
—, Temperaturkurven bei Impfungen auf Kaninchen.	220	Streptothrix lingualis. (Taf.)	137
Influenzabacillen in Schnitten.	152	Tetanusbacillen, Bau und Sporenbildung. (Taf. I, Fig. 79—83; Taf. II; Fig. 197 —216.)	662
Kapillarpyknometer.	391	Tetrabothrius Forsteri.	747
Kaulquappenbacillus. (Taf. II, Fig. 244.)	665	— triangularis.	759
Milzbrandbacillen, Bau und Sporenbildung. (Taf. I, Fig. 1—78, 84—127; Taf. II, Fig. 128—196, 225—243, 251, 252.)	661	Thermoregulator nach Novy. (Fig. 1.)	127
— nach Färbung mit Neutralrot.	550	Trypanosoma in Rinderblut. (Taf.)	238
Mus decumanus, Leberschnitte mit Cysten von Trypanosoma hepaticum.	89	Trypanosomen bei Schlafkrankheit. (Taf.)	67
Piroplasmose der Rinder, Parasiten. (Taf. I —III.)	492	— in Knochenmark und Milz.	595
Sarcosporidien vom Lama in Schnitten.	343	Typhusepidemie zu Thalweiler, Kurven und Situationsplan.	784
		Zentrifuge mit Gläsern.	393
		Zitzenkanal der Kuh, Querschnitt. (Taf.)	233

Fig.
s. Taf.
und Spang
83; Taf. 113

i.

Nory. Fz
ribut. In
abstraktion

nd. Milz
weder. Kze

Querschnitt

THE LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
San Francisco
Telephone — 666-2334

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE STAMPED BELOW

7 DAY LOAN

~~7~~ = DAY

SEP 4 1986
RETURNED

AUG 28 1986

st.



