



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 3 789 145



CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XXXVI. 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

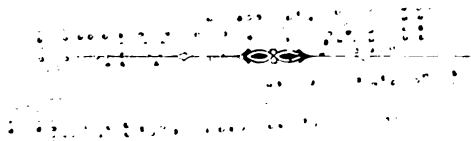
herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XXXVI. Band.
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 15 Tafeln und 68 Abbildungen im Texte.



J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1904.

100 TO 1000
1000 TO 10000

Nachdruck verboten.

Beiträge 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.

(Fortsetzung.)

Monod²⁾ fand in jauchigen, gashaltigen Leberabscessen bei einem Falle von Peritonäalsepsis neben Streptokokken und *Bact. coli* com. auch „Bacillen des malignen Oedems“. Nach Monod wären die Bakterien vom Darne aus nach einem septischen Anfall eingewandert. Der Nachweis der 3 genannten Bakterienarten ist aber angeblich auch durch die Kultur, es finden sich aber in der Arbeit weder darüber nähere Angaben, noch über die Morphologie.

Einen Fall von Gasgangrän, deren Erreger der „Vibrio septique“ gewesen sein soll, untersuchte — leider nicht auch kulturell — Menereul³⁾: Ein 35-jähr. Mann, der düngerhaltige Flüssigkeit getrunken hatte, erkrankte 2 Tage danach mit Fieber und Diarrhöe. Nach weiteren 2 Tagen entstand, ohne nachweisbare Hautabschürfung, an der Innenfläche des linken Schenkels ein schwärzlicher Fleck, der sich rasch vergrößerte. Unter Zunahme der Schwellung am Schenkel verfiel der Kranke in Komma und starb. Die Sektion, 1 Stunde nach dem Tode vorgenommen, ergab Oedem des Oberschenkels mit ausgebreitetem Emphysem vornehmlich an seiner Innenseite, im Ileum und an der Ileocaecalklappe große tuberkulöse Geschwüre. In der dunkelroten, blutähnlichen Oedemflüssigkeit fanden sich grampositive Bacillen, einzeln oder in gezielerten Fäden. Ähnliche, nur kürzere Bacillen waren auch im Blute nachweisbar. Die angelegte Gelatinekultur blieb steril. Ein intraperitoneal mit der Oedemflüssigkeit infiziertes Meerschweinchen zeigte bei der Sektion aufgetriebenes Abdomen, Gasknistern, Peritonitis mit blutiger Flüssigkeit und Pseudomembranen auf der Leber. In der blutigen Flüssigkeit waren ausschließlich lange Formen „du vibrio septique de Pasteur“ enthalten, ebensolche Bacillen im Blute. Ein zweites subkutan geimpftes Meerschweinchen zeigte im Bereiche der Injektionsstelle ausgedehntes Oedem mit Gasblasen, in der Oedemflüssigkeit und im Blute „des vibrations“. Ein drittes Meerschweinchen endlich, dem abgeschabtes Material vom Grund eines Darmgeschwüres intraperitoneal appliziert wurde, verendete mit denselben Erscheinungen wie das erstgeimpfte Tier, ebenso wie die mit dem Blute und dem Lungen-saite vom Menschen geimpften Meerschweinchen.

Menereul glaubte schließen zu dürfen, daß die in der Düngerflüssigkeit reichlich vorhandenen Keime von den Darmgeschwüren aus in den Körper gedrungen wären und dadurch den Gasbrand erzeugt hätten.

Es ist klar, daß niemand in der Lage ist, aus den vorliegenden Untersuchungs-befunden Menereuls sich eine Meinung über die Natur des Erregers zu bilden. Auch ist die Beschreibung nicht derart, daß der Schluß, es handle sich in diesem Falle um eine Reinfektion, gerechtfertigt erschiene. Für uns hat dieser Fall deshalb Interesse, weil der Darm als Eintrittspforte für die Infektion angesehen wurde.

Ueber einen weiteren angeblichen Fall von malignem Oedem im Anschlusse an eine komplizierte Radiusfraktur berichtete Honl⁴⁾. Durch die bakteriologische Untersuchung wurde „untrüglich der Bacillus des malignen Oedems in großer Menge“ nachgewiesen und „diese Diagnose auch kulturell sowie experimentell bestätigt“. Für einen Vergleich mit unserem Bacillus fehlt uns in den zitierten Mitteilungen Honls jede Handhabe.

Eine „Allgemeininfektion“ mit dem Bacillus des malignen Oedems will Pacinotti⁵⁾

2) Monod. Association bactérienne d'aërobies et d'anaërobies; gangrène du foie. (Compt. rend. hebdom. des séances et mémoires de la soc. de biol. 1885. Séance du 11 mai.)

3) Menereul. Gangrène gazeuse produit par le vibrio septique. (Annal. de l'Inst. Pat. I. IX. 1885.)

4) Honl, Malignes Oedem. Ergebnisse der allgem. Pathol. u. pathol. Anat. von Lubarsch u. Ostertag. 1886.)

5) Pacinotti, Infezione generalizzata da edema maligno nell'uomo inoculata per puntura di mignatta (*Hirudo medicinalis*). (Gazzeta degli ospedali e delle cliniche. 1886.)

beobachtet haben. Die Infektion betraf einen Rekonvaleszenten nach Operation einer beiderseitigen Leistenhernie (Bassini) und charakterisierte sich durch sanguinolentes Oedem und Gasbildung. Ueberall fanden sich Bacillen, die Anthraxbacillen glichen, nur etwas schmaler waren und abgerundete Enden zeigten. Sie waren lebhaft beweglich. Aus dem Herzblute wurden anaerobe und aerobe Kulturen angelegt. Die anaeroben zeigten nach 2 Tagen kleine wolkenartige Kolonien mit undeutlicher Peripherie, die aus Bacillen bestanden, gleich den in den Originalpräparaten nachgewiesenen, mit end- und mittelständigen Sporen. 3 mit dem Herzblute geimpfte Ratten starben mit den Erscheinungen des „malignen Oedems“; desgleichen eines von den 3 geimpften Kaninchen.

Pacinotti will die Bacillen des malignen Oedems durch das Tierexperiment auch in den Blutegeln selbst nachgewiesen haben.

v. Freudenreich¹⁾ gelang es, aus Käse einen anaeroben Bacillus zu isolieren, den er zunächst als *Clostridium foetidum lactis* bezeichnete, später jedoch mit Gfeller²⁾ genauer untersuchte, wobei es sich ergab, daß es sich um den „*Bacillus oedematis maligni*“ handle. Der Bacillus wurde dadurch gewonnen, daß einige Tropfen einer Käseemulsion in sterilisierte Milch gegeben wurden, aus der dann durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 80–85° Reinkulturen in hochgeschichteten Zuckeragargestichkulturen erhalten werden konnten. Die genannten Autoren haben eine größere Anzahl von Milchproben auf die Anwesenheit des „*Oedembacillus*“ untersucht und ihn des öfteren finden können. Der Bacillus bildete Sporen und Clostridenformen. Stichkulturen in Zuckeragar hatten das Aussehen eines umgekehrten Tannenbaumes und gaben einen käseartigen Geruch. Er wuchs auch bei Zimmertemperatur, verflüssigte Gelatine nicht, löste aber zur Gänze das Kasein der Milch, die gelblich gefärbt erschien und durch Fettflocken getrübt war. Zunächst ließ die Milch einen an Limburgerkäse erinnernden Geruch erkennen, der aber später in einen „wahren Fäulnisgeruch“ überging. Die Untersuchung eines größeren Kolbens von Magermilch zeigte nach mehreren Wochen das spezifische Gewicht von 1,0355 bei 15° und ließ nachweisen, daß die Eiweißkörper gelöst und ihrer Hauptmasse nach zugleich auch zersetzt waren.

Diesem „*Bacillus oedematis maligni*“ gegenüber unterscheidet sich der von uns isolierte anaerobe Bacillus in vielen wesentlichen Punkten.

Marek³⁾ beschrieb 3 Fälle von Rauschbrand beim Schweine, die alle 3 unter dem klinischen Bilde der sogenannten „Pharynx-angina“ verliefen. In allen 3 Fällen will er mikroskopisch „Rauschbrandbacillen“ nachgewiesen haben, daneben im ersten Falle in den Deckglaspräparaten aus einem submaxillaren Lymphknoten noch „*Oedembacillen*“. Marek spricht von „dicht gegliederten und ungliederten Oedemfäden“. Von Kulturen wird nichts berichtet. Tierversuche, mit Material vom ersten Falle ausgeführt, ergaben bei Kaninchen und Meerschweinchen positive Resultate, doch gibt der Autor selbst an, daß das nach der subkutanen Impfung aufgetretene Oedem verschiedene Bakterien enthielt.

Die Mitteilung von Ehrhardt⁴⁾ der über 3 Fälle von „malignem Oedem“ bei Kühen berichtet, enthält keine Angaben über bakteriologische Untersuchungen.

Ebenso wurde in dem Fall von „malignem Oedem“ beim Pferde, den Sander⁵⁾ mitteilte, die Diagnose ohne bakteriologische Untersuchung gestellt.

Dem Referate zufolge will Born⁶⁾ in einem Falle von „malignem Oedem“ bei einem Schwein mikroskopisch „sporenhaltige Rauschbrandbacillen“ und „*Oedembacillen*“ nachgewiesen haben und in einem 2. Falle zeigte die Oedemflüssigkeit des Tieres gleichfalls mikroskopisch zahlreiche „*Oedembacillen*“ und längere Fäden.

In den Beobachtungen von Koniński⁷⁾ wurde die Diagnose „malignes Oedem“

1) v. Freudenreich, E., Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käseerfahrensprozesses. (Centrabl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.) — Bemerkungen zu Dr. H. Weigmanns Mitteilung über den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käseerfahrensprozesses. (Ibid. Bd. II. 1896.)

2) v. Freudenreich, E. u. Gfeller, E., Ueber das Vorkommen des *Bacillus oedematis maligni* im Käse und die von demselben in der Milch hervorgerufenen Veränderungen. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. X. 1896.)

3) Marek, J., Rauschbrand beim Schweine. (Monatshefte f. prakt. Tierheilk. Bd. VII. 1896.) — Ein neuer Rauschbrandfall beim Schweine. (Ibid. Bd. VIII. 1897.)

4) Ehrhardt, J., Mitteilungen aus der Bujatrik. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. XXXVIII. 1896.)

5) Sander, Südafrikanische Epizootien etc. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXII. 1896.)

6) Born, Rauschbrand und malignes Oedem beim Schweine. (Veterinarius. 1897. No. 16. Refer. Jahresber. üb. d. Leistungen a. d. Geb. d. Veterinärmed. 1897.)

7) Koniński, K., Malignes Oedem mit enzootischem Charakter. (Oesterr. Monatschrift f. Tierheilk. u. Revue. Bd. XXII. 1898.)

durch den mikroskopischen Befund und durch Tierexperimente erhärtet. Neben reichlichen Fäulnisbakterien konnten „mikroskopisch“ auch „Oedembacillen“ nachgewiesen werden, und das subkutan mit dem Originalsekret geimpfte Meerschweinchen und Kaninchen zeigte schon nach 20 Stunden noch in vivo eine „Dermatitis exsudativa acuta der Bauchhaut“ und „Ausfall der Haare“ in der Umgebung der Impfstelle. Der Sektionsbefund der Tiere war wenig charakteristisch. In dem „seröslutigen Exsudat“ der Bauchhöhle konnten aber „Oedembacillen in Reinkultur“ nachgewiesen werden.

In der Mitteilung von Lembeken¹⁾ sind dem Referate zufolge Angaben über bakteriologische Untersuchungen nicht enthalten.

In dem Falle von „malignem Oedem“ bei einem Pferde, den Eckart²⁾ bekannt gegeben, konnten mikroskopisch in dem blutigserösen Saft aus dem Unterhautzellgewebe „Oedembacillen“ nachgewiesen werden.

Einen Fall von Gasgangrän nach einer Vorderarmfraktur bei einem 10-jährigen Mädchen teilten Tubby und Wright³⁾ mit. Als Erreger wurde der „Bacillus des malignen Oedems“ angenommen, doch konnte derselbe kulturell nicht nachgewiesen werden. Ob Deckglaspräparate angesehen wurden, wird von den Autoren nicht angegeben.

Auch in dem Gangränfalle von Mason⁴⁾ wurden genauere bakteriologische Untersuchungen nicht gemacht; sie beschränkten sich vielmehr nur auf tiefe Kulturen und mit diesen ausgeführte Tierversuche an Meerschweinchen, die angeblich „with all the symptoms of malignant oedema“ eingingen. Der Fall betraf ein 11-jähriges Mädchen, der Gasbrand entstand im Anschlusse an eine ausgebreitete Weichteilverletzung.

Genauer untersuchte Eisenberg⁵⁾ seinen Fall. Es handelte sich um einen 19-jährigen Arbeiter, der nach einer Maschinenverletzung der linken Hand eine Gasphegmonie bekam. Das sowohl in vivo durch die Incision gewonnene Sekret, welches übelriechend war und Gasblasen zeigte, als auch das bei der Sektion gewonnene enthielten ein Bakterien-gemenge, darunter Stäbchen mit endständigen Sporen und freie Sporen. Die nach der Methode von Kitasato gewonnenen Reinkulturen zeigten in Agarstichkulturen nach 24 Stunden entlang dem Impfstiche einen weißlichen Streifen mit Gasbildung, in Bouillon nach 18 Stunden starke Trübung mit Gasbildung, nach 48 Stunden wurde die Fleischbrühe unter Bildung eines reichlicheren Bodensatzes klar. In Gelatinestichkulturen erfolgte langsames Wachstum, baumförmig mit langsamer Verflüssigung und Gasbildung. In Milch zeigte sich nach 5 Tagen Gerinnung in Form feiner und feinsten Flocken, ohne Peptonisierung und später Gasbildung. Der Bacillus war lebhaft beweglich und gramnegativ. Sporenbildung erfolgte nur in Zuckeragar nach 2—5 Tagen, aber auch nicht regelmäßig, dagegen gar nicht in Zuckerbouillon und Zuckergelatine. Die Sporen bildeten sich fast nur endständig. Um Meerschweinchen und Kaninchen zu töten, waren größere Mengen von Bouillonreinkulturen notwendig, für erstere 2 ccm, für letztere 4 ccm. Der Tod der Tiere erfolgte in 18—36 Stunden unter zunehmender Temperaturabnahme. Die Sektion von typischen Fällen ergab im subkutanen Bindegewebe der Tiere Oedem mit vielen Gasblasen, fuchsinrote Färbung der Muskulatur und seröse Transsudation in die Bauch- und Pleurahöhle. Wurde die Sektion gleich nach dem Tode der Versuchstiere ausgeführt, so er-

1) Lembeken, Malignes Oedem. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIV. 1898. Refer. Jahresber. üb. d. Leistungen a. d. Geb. d. Veterinärmed. 1898.)

2) Eckart, Malignes Oedem beim Pferde. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. 1898.)

3) Tubby and Wright, On spreading traumatic gangrene. (Brit. med. Journ. 1898. Vol. II.)

4) Mason, Case of malignant oedema: Amputation of the thigh. Recovery. (Brit. 1899. med. Journ. Vol. I.)

5) Eisenberg, F., Przypadek obrzęku złośliwego (Oedema malignum). (Przegląd lekarski. 1899.)

wies sich das Blut als steril. In der Peritonealflüssigkeit ließen sich aber immer lange Bacillenfäden nachweisen.

Die recht genaueren Untersuchungsergebnisse von Eisenberg stimmen in den wichtigsten Punkten mit jenen überein, die wir an unserem Bacillus erhalten haben. So sehr wir deshalb geneigt wären, Eisenbergs Bacillus mit dem unsrigen zu identifizieren, müssen wir es doch als fraglich hinstellen, ob wir dazu berechtigt wären, da mehrere präzise gemachte Angaben Eisenbergs unseren Befunden widersprechen.

Aus dem Falle von „Malignem Oedem innerer Organe“, den Grigorjeff und Ukke¹⁾ beobachteten, erfahren wir, daß die Autoren bei einem an Typhus verstorbenen Soldaten 40 Stunden post mortem die inneren Organe, die Muskulatur und das subkutane Bindegewebe von Gas durchsetzt (!) fanden, diese Veränderungen als „malignes Oedem“ auffaßten und aus den Organen einen Bacillus züchteten, der Gelatine nicht verflüssigte und ein geruchloses Gas produzierte.

v. Hibler²⁾ untersuchte nebst anderen anaeroben Bakterien 3 Stämme von „Bacillen des echten malignen Oedems (Koch)“. Davon wurde der eine Stamm aus dem Milzblut eines Maultieres gezüchtet, der zweite aus dem Verunreinigungsmateriale von einer Schnittwunde eines Knaben und der dritte aus Gartenerde. Diese 3 Stämme wurden als „Bacillen des echten malignen Oedems“ bezeichnet und als anaerobe, sporenbildende Bacillen beschrieben, die sich für Mäuse, Ratten, Meer-schweinchen und Kaninchen pathogen erwiesen. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Tiere bestanden in Oedem des subkutanen Zellgewebes und der Muskulatur; Gasdurchsetzung kam „kaum zur Beobachtung“. Gleich nach dem Tode waren die Bacillen bereits in den serösen Höhlen, besonders am Peritoneum, in großer Menge vorhanden und zeigten hier „vielgliedrige, fädige Individuenverbände“. Diesen maß v. Hibler als differentialdiagnostisches Merkmal gegenüber den anderen untersuchten Anaerobiern eine gewisse Bedeutung bei, desgleichen auch dem Vorkommen fädiger Verbände in histologischen Schnitten vom Unterhautbindegewebe und Muskelgewebe. Die Kulturen dieser Stämme behielten ihre Virulenz unter den von v. Hibler untersuchten anaeroben Bakterien am längsten bei. An dem Aussehen der Kolonien in Gelatine konnte v. Hibler konstante Befunde nicht erheben, die peptonisierende Wirkung für Gelatine war ungleichmäßig. In den Kulturen trat Gasbildung auf. In Milch erzeugten diese Bacillen bei 37° saure Reaktion und allmählich (nach 5—10 Tagen oder später) feinflockige Fällung des Kaseins mit „kaum bemerkbarer oder doch nur geringfügiger Peptonisierung derselben, und fehlender oder doch nur sehr geringgradiger Gasentwicklung“. In Pferdeblutserum trat „ziemlich konstant“ Verflüssigung ein.

Die Untersuchungsergebnisse v. Hilters in Gehirnnährböden, Kaninchenblut etc. können wir für den Vergleich mit unserem Bacillus nicht verwerten, da wir diese Kulturmethoden nicht verwendet hatten.

Die von v. Hibler gegebene Darstellung seiner „echten Oedembacillen“ paßt vielfach auf unseren Bacillus, da aber in einigen Punkten doch Widersprüche bestehen, außerdem von v. Hibler über das uns recht wichtig erscheinende Merkmal der Beweglichkeit keinerlei Angaben

1) Grigorjeff u. Ukke, Malignes Oedem innerer Organe beim Menschen. (Milit.-med. Journ. 1898. [Russisch.] Refer. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899.)

2) v. Hibler, Beiträge zur Kenntnis der durch anaerobe Spaltpilze erzeugten Infektionskrankheiten der Tiere und des Menschen etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXV. 1899.)

gemacht wurden, erschiene es uns doch nicht gerechtfertigt, unseren Bacillus mit seinen Stämmen ohne weiteres zu identifizieren.

v. Rátz¹⁾ teilte die Sektionsbefunde von 2 Fällen von „malignem Oedem“ bei Pferden mit, die beide neben Oedem Gasbildung mit unangenehmem Geruch zeigten. Deckglaspräparate von der subkutanen Oedemflüssigkeit ergaben in großer Anzahl verschieden lange, dünne Stäbchen, deren Enden abgerundet erschienen. Die längeren Formen zeigten Gliederung. Im 1. Falle fanden sich auch Sporen, und zwar derart gelagert, daß die Bacillen Rauschbrandbacillen ähnlich waren. Neben den Bacillen, die als solche des „malignen Oedems“ angesprochen wurden, fanden sich noch andere Bakterien. Weiße Mäuse, subkutan geimpft, verendeten am 2. Tage nach der Impfung. Bei der Sektion der Tiere fand sich im subkutanen Bindegewebe und in den oberflächlichen Muskeln — von der Impfstelle ausgehend — ein entzündliches Oedem und ein beträchtlicher Milztumor. Ueber andere Untersuchungen wird nichts berichtet.

Der von Brabec²⁾ mitgeteilte Fall betraf einen Menschen, bei welchem an der linken Schultergegend ohne nachweisbare Ursache eine Schwellung entstand, deren Probepunktion eine blutigseröse Flüssigkeit ergab. In dieser fanden sich einzelne oder zu 2 und 3 angeordnete Bacillen. In den Kulturen fand sich Staphyl. pyog. aur. und in den tiefsten Schichten der Serumkulturen ein sporentragendes Stäbchen mit abgerundeten Enden. Die mit der vom Menschen stammenden Flüssigkeit geimpften Tiere — Maus, Meerschweinchen und Kaninchen — gingen mit Oedem ohne Gasbildung ein. Der Bacillus entfärbte sich bei Anwendung der Gramschen Methode, war ein absolutes Anaërobion und wurde von Honl als „Bacillus oedematis maligni sui generis“ diagnostiziert.

Eingehender befaßten sich Leclainche und Vallée³⁾ mit der Differentialdiagnose zwischen dem „Vibrion septique“ und dem Rauschbrandbacillus und kamen in ihrer sehr interessanten Arbeit zu folgenden Schlüssen: Zwischen beiden Bakterien bestehen enge biologische Beziehungen, doch kann man sie dadurch unterscheiden, daß bei den Infektionen von Meerschweinchen mit dem „Vibrion septique“ schon gleich nach dem Tode besonders im Peritoneum immer lange und gebogene Formen zu finden seien, während dies bei der Rauschbrandinfektion niemals vorkommen soll. Die Impfung von Kaninchen habe für die Differentialdiagnose nur einen beschränkten Wert, da sowohl Leclainche und Vallée als auch Nocard und Roux häufig Kaninchen der Infektion mit Rauschbrandbacillen erliegen sahen. Die Immunsera für die Infektion mit Rauschbrandbacillen und für die Infektion mit dem „Vibrion septique“ seien streng spezifisch, ebenso das Agglutinationsvermögen beider Sera. Immunität gegen die Rauschbrandinfektion habe nicht auch solche gegen die Infektion mit dem „Vibrion septique“ zur Folge und umgekehrt.

Eine Arbeit von Leclainche und Morel⁴⁾ befaßte sich gleichfalls mit Immunisierungsversuchen gegen die Infektion mit dem Vibrion septique. Das von den genannten Autoren hergestellte Serum besaß gleichzeitig antibakterielle und antitoxische Eigenschaften.

Gilruth⁵⁾ will „malignes Oedem“ bei Schafen und Lämmern beobachtet haben und konnte mit einer Erdprobe aus jenem Gebiete, in welchem die Infektionen erfolgten,

1) v. Rátz, St., Zwei Fälle von malignem Oedem bei Pferden. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. XI. 1900.)

2) Brabec, Ueber malignes Oedem. (Wiener klin. Rundschau. 1901. No. 1.)

3) Leclainche et Vallée, Etude comparée du vibrion septique et de la bactérie du charbon symptomatique. (Annal. de l'Inst. Past. T. XIV. 1900.)

4) Leclainche et Morel, La sérothérapie de la septicémie gangrèneuse. (Annal. de l'Inst. Past. 1901.)

5) Gilruth, J. A., Malignant oedema in sheep and lambs. (The veterinarian. 1900.)

die Krankheit bei einem Lamme erzeugen. Aus diesem wurden dann 3 Bacillen gezüchtet, 2 aërobe und 1 anaërobe Art. Letztere war ein sporenbildender Bacillus, der in jungen Kulturen sehr beweglich war und sich bei Anwendung der Gramschen Methode entfärbte. In Agarkulturen erfolgte rasche Gasentwicklung unter Bildung des für den Oedembacillus charakteristischen, eigentümlich stinkenden Geruches („peculiar foetid“). Der Bacillus war pathogen für Meerschweinchen und Schafe, nicht aber für andere Tiere.

Fröhner¹⁾ beobachtete eine Infektion von „malignem Oedem“ beim Pferde nach einer subkutanen Arecolininjektion. Der Tod erfolgte nach 2 Tagen. Kopf, Hals und Vorderbrust waren geschwollen, das Unterhautgewebe durchsetzt von gelblicher Flüssigkeit und Gasblasen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte Stäbchen mit endständigen Sporen, sowie lange Fäden, die sich aus langen Bacillen mit abgerundeten Enden zusammensetzten. Ein subkutan geimpftes Meerschweinchen verendete nach 24 Stunden. Das Unterhautgewebe dieses Tieres zeigte bei der Sektion ein sulziges Aussehen und ließ dieselben Bacillen wie beim Pferde nachweisen.

Thum²⁾, der einen Fall von „malignem Oedem“ bei einer Kuh beschrieb, hat keine bakteriologische Untersuchung des Falles vorgenommen.

Zschokke³⁾ beobachtete einen Fall von „malignem Oedem“ bei einem Pferde, ausgehend von einem Nageltritt links vorne. Das Tier verendete und die 12 Stunden post mortem ausgeführte Sektion ergab: Infiltration des Unterhaut- und Zwischenmuskelgewebes im Bereiche der linken Schulter, der Vorder- und Unterbrust, des Schlauches und Halses mit einer gelblichen, klaren Flüssigkeit, die feinste Gasbläschen enthielt, und Blutungen in der Muskulatur dieser Regionen. Nirgends Eiter. Die inneren Organe waren ohne Veränderungen. In der Oedemflüssigkeit fanden sich mikroskopisch enorme Mengen eines Stäbchens („ohne fremde Beimengung“), welches grampositiv war, in seinen kürzeren Formen sich gleichmäßig färbte, in seinen längeren Formen nur an einem oder beiden Polen. Die ungefärbte Partie erschien etwas „gedunsen“, die Stäbchen dadurch spindel- oder kolbenförmig. Ein intraperitoneal und ein subkutan mit der Oedemflüssigkeit geimpftes Kaninchen (0,5 bzw. 1,0 ccm) verendeten, das erstere nach 16, das letztere nach 60 Stunden. Die Tiere zeigten Oedem an der Impfstelle und Blutungen in den serösen Häuten. Im Oedem fanden sich mikroskopisch dieselben Stäbchen wie beim Pferde. Diese Stäbchen wuchsen in Blutserum- und Agarkulturen „anaërob bei Körpertemperatur sehr rasch unter starker Gasentwicklung ohne Verflüssigung des Nährbodens“. Bei Zimmertemperatur war das Wachstum ein geringeres.

Eingehendere Berücksichtigung verdienen die Fälle von Silberschmidt⁴⁾, welche ohne genaueren bakteriologischen Befund schon von Hämig und Silberschmidt⁵⁾ mitgeteilt wurden. Der erste der Fälle betraf eine 47-jährige Frau, die einen komplizierten linksseitigen Vorderarmbruch erlitten hatte mit nachfolgender Anschwellung des Armes, Auftreten von Knistern, graugrüner Färbung der Haut und Sensibilitätsverlust. Von der Wunde verbreitete sich ein „penetrant fauliger Geruch“. Die Patientin starb. Bei der Sektion (10 Stunden p. m.) fand man Gas in der Brust-, Bauch- und Perikardialhöhle, in der Haut und in den Weichteilen der unteren Extremitäten und im Zellgewebe des Thorax, sowie Schaumorgane. Eiterung war nicht nachweisbar, auch nicht am amputierten Arme. Der mikroskopische Befund war in allen untersuchten Teilen des Armes und Thorax gleich: zahlreiche große, den Milzbrandbacillen ähnliche Bakterien und grampositive Kurzstäbchen. Auch die Kulturen ergaben überall dasselbe Re-

1) Fröhner, Ein Fall von malignem Oedem beim Pferde. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. XII. 1901.)

2) Thum, Malignes Oedem bei der Kuh. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. Jahrg. VI. 1901.)

3) Zschokke, E., Klinische Notizen. II. Malignes Oedem beim Pferd. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. XLII. 1901.)

4) Silberschmidt, Bakteriologisches über einige Fälle von „Gangrène foudroyante“ etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902.)

5) Hämig u. Silberschmidt, Klinisches und Bakteriologisches über „Gangrène foudroyante“. (Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1900.)

sultat: *Bacterium coli* und eine anaërobe, sporentragende, eigenbewegliche Bacillenart, die folgendes kulturelles Verhalten zeigte: In Glycerin- und Traubenzuckeragar nach 24 Stunden Entwicklung mit Gasbildung, die einzelnen Kolonien „rundlich, nicht scharf begrenzt, am ehesten mit kleinen Wattestückchen vergleichbar“. Im Agarstiche vom Impfstiche ausgehende kurze, etwas dicke Ausläufer. In Gelatine verflüssigende Kolonien mit Ausläuferbildung. In Bouillon üppiges Wachstum mit Trübung und flockigem Bodensatz. In Milch Gerinnung nach einigen Tagen und folgender Peptonisierung. Sporenbildung erfolgte leicht. Der Bacillus war nicht pathogen für Mäuse (subkutan), Meerschweinchen und Kaninchen (subkutan und intramuskulär). Nur ein Kaninchen bekam nach subkutaner Einverleibung von 6 ccm Bouillonkultur einen Absceß an der Injektionsstelle, blieb aber am Leben. Ebenso erfolglos waren die Versuche mit dem frisch entnommenen Materiale und mit den Originalkulturen.

Auch im 2. Falle trat die unter den gleichen Symptomen verlaufene „Gangrène foudroyante“ im Anschluß an eine Vorderarmverletzung auf. Nachdem der Arm amputiert war, genas der Patient, trotzdem sich eine bakteriologisch sichergestellte Allgemeininfektion angeschlossen hatte. Schon bei der Operation entnommenes Material zeigte mikroskopisch ziemlich lange Bacillen, wenig Kokken, jedoch keine Sporen. Die Kultivierung, von verschiedenen Stellen und in ähnlicher Weise aërob und anaërob ausgeführt wie im 1. Falle, ergab: *Streptococcus pyog.* und einen obligat anaëroben Bacillus. Dieser versportete leicht, war eigenbeweglich und ließ in allen seinen Kulturen einen sehr starken unangenehmen Geruch erkennen. In Agar- und Zuckerbouillon wuchs er üppig mit Gasbildung, Gelatine verflüssigte er bald, in Rinderserum bewirkte sein Wachstum Peptonisierung und Gasbildung. Impfungen mit Reinkulturen an Meerschweinchen und Kaninchen blieben resultatlos, solche mit frischem Materiale hatten nur Abscesse an der Injektionsstelle zur Folge.

Silberschmidt identifizierte die aus seinen 2 Fällen gewonnenen anaëroben Stämme miteinander und mit dem im hygienischen Institute zu Zürich befindlichen Stamm des „*Bacillus des malignen Oedems*“. Unserem Bacillus gegenüber weisen die beiden Stämme von Silberschmidt eine Reihe von Unterschieden auf, die es zweifellos rechtfertigen, die Bacillen Silberschmidts als andere Arten anzusehen. Der Mangel an Pathogenität für die Versuchstiere, der sehr unangenehme Geruch der Reinkulturen, die Verflüssigung der Serumkulturen und die Peptonisierung der Milchgerinnung sind Merkmale, die eine Abgrenzung der Silberschmidtschen Bacillen von unserem mit Sicherheit gestatten.

Ein neuer Fall von „malignem Oedem“ beim Pferde, den Fröhner¹⁾ 1902 mitteilte, blieb ohne bakteriologische Untersuchung.

Ebenso finden sich keinerlei Daten über bakteriologische Untersuchungen in dem Falle von „malignem Oedem“ bei einer Dogge, den Lellmann²⁾ berichtete.

Eine Studie über eine Reihe von anaëroben Bakterien, unter welchen sich auch 2 Stämme des „*Vibrion septique*“ befanden, unternahm Achalme³⁾. Dieselbe berück-

1) Fröhner, Ein weiterer Fall von malignem Oedem beim Pferde. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1902.)

2) Lellmann, Ein Fall von malignem Oedem bei einem Hunde. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1902.)

3) Achalme, Recherches sur quelques Bacilles anaërobies et leur différenciation. (Annal. de l'Inst. Past. T. XVII. 1902.)

sichtigte insbesondere das Verhalten der anaëroben Bakterien in verschiedenen, Stickstoff und Kohlenhydrate enthaltenden Nährboden und bietet keinerlei Vergleichspunkte mit den Untersuchungen über unseren Bacillus, so daß es zwecklos erschiene, auf diese Arbeit näher hier einzugehen.

Und schließlich sei noch eines erst unlängst veröffentlichten Falles von Gould¹⁾ Erwähnung getan. Dieser Fall betraf einen italienischen Arbeiter, der eine Rißwunde an der rechten Ferse erhalten hatte. Nach 2 Tagen war die Wunde gangränös und gashaltig. Nachdem sich Emphysem und Oedem auszubreiten begannen, willigte der Patient in die Amputation. Heilung.

Die bakteriologische Untersuchung ergab neben anderen Bakterien einen obligat anaëroben Bacillus, den Gould als „Bacillus des malignen Oedems“ ansprach. Der Bacillus hatte abgerundete Enden und bildete ovale Sporen, die meist in der Mitte des Bacillenkörpers lagen und dann den Bacillus bauchig machten. Die Sporenbildung erfolgte am besten in Gelatine- und Bouillonkulturen. Das Verhalten zur Gramschen Färbungsmethode war ein inkonstantes, indem sich in den Kulturen die Bacillen teilweise oder ganz entfärbten, während dieselben im Peritonealexsudat frisch gefallener Tiere gefärbt blieben. Der Bacillus war beweglich und ließ zahlreiche Geißeln nachweisen. Die Beweglichkeit war nur im Tierkörper sichtbar. Kulturen und Tierleichen gaben einen eigentümlich fauligen Geruch („a peculiar putrefactive odor“). Das Wachstum des Bacillus erfolgte sowohl bei Brut- als auch bei Zimmertemperatur. In 1-proz. Zuckeragar entwickelten sich schon nach 24 Stunden Kolonien, die unter dem Mikroskope dicht gelagerte längere und kürzere Ausläufer an der Peripherie zeigten und Gas bildeten. In 1-proz. Zuckergelatine bildeten sich bei Zimmertemperatur nach 3 bis 6 Tagen Kolonien, welche die Gelatine in ihrer Umgebung verflüssigten. Vom Rande dieser so entstandenen flüssigen Gebilde strahlten Ausläufer in die Umgebung aus, die gelegentlich an ihren Enden den Ausgangspunkt neuer Verflüssigungsherde gaben. In 1-proz. Zuckerbouillon erfolgte unter reichlicher Gasbildung Trübung, die nach 24—48 Stunden sich als reichlicher Bodensatz niederschlug, die Sporenbildung erfolgte dabei rasch. Auf Kartoffeln erfolgte anaërob kein Wachstum, ebenso nicht in koaguliertem Blutserum. In anaëroben Milchkulturen schlug sich nach 24 Stunden ein dunkelgrauer Satz auf den Boden der Eprouvette nieder, und nach 48—72 Stunden zeigte sich „a marked coagulation“ in der Milch. Meerschweinchen erlagen nach subkutaner Injektion in 18—24 Stunden und zeigten dann folgende Veränderungen: subkutanes hämorrhagisches Oedem, seröse Exsudation in die Pleura- und Bauchhöhle und in mäßiger Menge subkutane Gasbildung. Die Bacillen fanden sich in der Oedemflüssigkeit, im peritonealen und pleuralen Erguß, im Blut und in der Milz.

Auch der von Gould isolierte Bacillus zeigt im allgemeinen Uebereinstimmung mit dem von uns beschriebenen. Eine sichere Identifizierung können wir aber auch hier nicht vornehmen, da in einigen Punkten Differenzen bestehen, von denen wir allerdings heute noch nicht wissen, ob sie als gültige Unterschiede auch später noch bestehen bleiben werden.

Wenn wir noch auf die Darstellungen eingehen, die sich über den „Bacillus des malignen Oedems“ in den verschiedenen Lehr- und Hand-

1) Gould, H. A., A case of malignant oedema. (Ann. of surg. 1903. Okt.)

büchern finden, so sei zunächst hervorgehoben, daß die meisten der Lehrbücher bloß Zusammenstellungen aus der im vorhergehenden zitierten Literatur enthalten, ebenso die ausführlicheren Referate von Honl¹⁾ und Davids²⁾. Wir müßten daher schon Gesagtes wiederholen, wenn wir in eine Vergleichung dieser Angaben mit den Befunden an unserem Bacillus eingingen. Nur einzelne Punkte, denen anscheinend eigene Untersuchungen der einzelnen Autoren zu Grunde liegen, verdienen hervorgehoben zu werden.

So erscheint es uns erwähnenswert, daß Baumgarten³⁾ ausdrücklich bemerkt, „stinkende Produkte“ würden durch die Vegetation der Oedembacillen nicht gebildet, eine Tatsache, die mit dem Verhalten unseres Bacillus in Einklang stünde. Dagegen widersprechen Baumgartens Angaben über die Fähigkeit des Bacillus des malignen Oedems, koaguliertes Serum zu verflüssigen, den Befunden an unserem Bacillus.

Auch Kruse⁴⁾ gibt in Flüggés Handbuch an, daß bei dem experimentell mit Reinkulturen erzeugten „malignen Oedem“ ein übler Geruch nicht vorhanden sei, daß aber in den Kulturen ein „sehr unangenehmer“ Geruch erzeugt werde.

Hewlett⁵⁾ spricht von einem „foul odor“ und Jensen⁶⁾ bezeichnet denselben als „höchst unangenehm“.

Bezüglich des Verhaltens zur Färbungsmethode von Gram sind vielfach Angaben vorhanden, die mit den an unserem Bacillus gemachten eingehenden Erfahrungen nicht übereinstimmen. So fanden Lehmann und Neumann⁷⁾ ihre Kulturen nach der Methode von Gram nicht färbbar, ebenso Kruse und Hewlett, während andere Autoren sich auf die Untersuchungen von Kutscher⁸⁾ beziehen, der die „Bacillen des malignen Oedems“ bei Anwendung der Gramschen Methode färben konnte.

Eine eingehendere Berücksichtigung verdient die Darstellung von Kitt⁹⁾ in der jüngsten Auflage seines Lehrbuches, zumal sich Kitt selbst wiederholt mit dem „malignen Oedem“ beschäftigt hat. Kitt beschreibt darin die „Bacillen des malignen Oedems“ als anaërobe grampositive Bacillen, die im Tierkörper oft zu Scheinfäden auswachsen, schwache, bei Sauerstoffzutritt bald sistierende Eigenbewegung zeigen, und unter spindel- oder löffelförmiger Anschwellung mittel- oder endständige Sporen bilden. Sie gedeihen bei Zimmer- und Bruttemperatur, verflüssigen Gelatine und bilden in derselben Gas, besonders bei Gegenwart von Traubenzucker; ebenso führen sie zu reichlicher Gasentwicklung in hochgeschichtetem Agar, in welchem die Einzelkolonien unregelmäßige, bald kleinere und zarte, bald größere drüsige Herde

1) Honl, J., Malignes Oedem. (Ergebnisse d. allgem. Path. etc. von Lubarsch u. Ostertag. Bd. I. 1896.)

2) Davids, H., Malignes Oedem. (Ergebnisse d. allgem. Path. etc. von Lubarsch u. Ostertag. Bd. VI. 1899.)

3) Baumgarten, P., Lehrbuch der pathologischen Mykologie. 1890.

4) Kruse, W., Bacillen. (Die Mikroorganismen von C. Flüggé. Bd. II. 1896.)

5) Hewlett, R. T., A manual of bacteriology clinical and applied. London 1902.

6) Jensen, Malignes Oedem. (Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. 1903.)

7) Lehmann, K. B. u. Neumann, R. O., Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der bakteriologischen Diagnostik. 1899.

8) Kutscher, Ein Beitrag zur Kenntnis der bacillären Pseudotuberkulose der Nagetiere. (Zeitschr. f. Hyg. 1894.)

9) Kitt, Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin. Wien 1903.

darstellen. In Bouillonkulturen entstehe Trübung mit Gasbildung, später Bildung eines Bodensatzes und Klärung der Bouillon. Das gebildete Gas sei geruchlos. Die Sporenbildung erfolge auch in Kulturen, die Sporen werden durch 100° in wenigen Minuten, durch 80° nach 11 bis 12 Stunden abgetötet.

Diese Darstellung von Kitt entspricht fast völlig den Befunden die wir bei unserem Bacillus erheben konnten. Leider erfahren wir bei Kitt nichts über das Verhalten der Bacillen in Milch und Serum, so daß eine sichere Identifizierung unseres Bacillus mit den von ihm untersuchten Stämmen in suspenso bleiben muß.

Dagegen ist die neueste von Jensen im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann gegebene Beschreibung des „Bacillus oedematis maligni“ in mancher Hinsicht nicht übereinstimmend mit unseren Beobachtungen. Insonderheit sei auf das Verhalten in der Milchkultur hingewiesen, die nach Jensen allmählich die Entstehung eines „schwachen Gerinnsels“ zeige, welches später peptonisiert werde. Gleichzeitig soll diese Kultur einen höchst unangenehmen Geruch verbreiten. Ein solches Verhalten konnten wir niemals konstatieren.

Nach Muir und Ritchie¹⁾ gibt der „Bacillus des malignen Oedems“ die Farbe bei Anwendung der Gramschen Methode ab und unterscheidet sich in dieser Richtung vom Anthraxbacillus. Die Kolonien in Gelatineplatten erscheinen zunächst als kleine, weiße Punkte mit strahligem Aussehen in der Peripherie und erinnern an Subtilis-Kolonien. Die Gelatine wird verflüssigt. Sporenbildung erfolge schon bei 20° C. Die Kulturen besitzen „a peculiar heavy, though not putrid, odour“. Subkutane Infektion mit Reinkulturen erzeugen ein ausgebreitetes blutiges Oedem mit wenig Gas und ohne putriden Geruch.

Die Abbildungen, die Muir und Ritchie vom „Bacillus des malignen Oedems“ bringen, entsprechen völlig unserem Bacillus.

Ebenso finden wir auch in den Bildern, die C. Fraenkel und Pfeiffer²⁾ sowie Zettnow³⁾ bringen, keine auffälligen Differenzen unserem Bacillus gegenüber. Doch darf diesem Umstände unserer Meinung nach kein zu großes Gewicht beigelegt werden, weil der „Bacillus des malignen Oedems“ sich durch große Pleomorphie auszeichnet, und weil auch andere, sicher artverschiedene Bacillen dieselben Formen zeigen.

Wir haben uns Mühe gegeben, in die Literatur über den „Bacillus des malignen Oedems“ genauen Einblick zu nehmen. Mehr als in irgend einem anderen Kapitel der bakteriologischen Forschung tritt uns hier die auffällige Erscheinung entgegen, daß die allerwenigsten der vielen Autoren, welche sich mit dieser Frage befaßten — sei es daß sie Bacillen als solche des „malignen Oedem“ oder angebliche Krankheitsfälle von „malignem Oedem“ beschrieben — auch nur den Versuch unternahmen, ihre Auffassung zu begründen.

In der Mehrzahl der im Vorhergehenden besprochenen Arbeiten fehlen bakteriologische Untersuchungen entweder völlig oder sind so

1) Muir, R. u. Ritchie, J., Manual of bacteriology. 1902.

2) Fraenkel, C. u. Pfeiffer, Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. 1895.

3) Zettnow, Atlas photographischer Tafeln nach Originalaufnahmen. (Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann) 6. Lief. 1902.

mangelhaft, daß diese Arbeiten für die hier zu erörternden Fragen nicht verwertet werden können. Bei anderen Mitteilungen wieder stützt sich zwar die Diagnose auf angeblich ausgeführte bakteriologische Untersuchungen, doch finden sich in den Arbeiten keine Angaben darüber, in welchem Umfange diese gemacht wurden, so daß eine kritische und vergleichende Verwertung derselben ausgeschlossen erscheint.

Alle diese Arbeiten, die wir eigentlich nur der Vollständigkeit halber angeführt haben, tragen unserer Meinung nach nur zur Verwirrung der ohnehin genug unklaren Sachlage bei. Eine Förderung in der Kenntnis über das „maligne Oedem“ und seinen Erreger ist durch sie so gut wie ausgeschlossen, zumal — wie wir noch später erörtern wollen — das klinische Bild der als „malignes Oedem“ bezeichneten Erkrankung kein einheitliches und kein solches ist, daß daraus die Diagnose ohne weiteres gemacht werden kann. Es erscheint uns deshalb angezeigt, diese Arbeiten und Mitteilungen bei den folgenden Auseinandersetzungen nicht weiter zu berücksichtigen.

Einen großen Anteil an der Unklarheit, die bezüglich des „Bacillus des malignen Oedems“ besteht, hat aber auch der Umstand, daß selbst von jenen Autoren, deren Untersuchungen als mehr oder weniger vollständige angesehen werden müssen, ein großer Teil die Tatsache nicht in Erwägung gezogen hat, was man nach R. Koch und Gaffky eigentlich als „malignes Oedem“ bzw. als „Bacillus des malignen Oedems“ zu bezeichnen berechtigt sei. Aus der ausführlichen Besprechung der Arbeiten von R. Koch und Gaffky geht doch wohl mit Bestimmtheit hervor, daß diese Forscher als „Bacillen des malignen Oedems“ den Erreger einer ganz bestimmten, experimentell erzeugten Krankheit bei Tieren bezeichneten, über dessen Eigenschaften und Verhalten sie zwar nicht genauere, aber doch niemals zu vernachlässigende Angaben gemacht haben.

Wenn daher Autoren Bacillen, welche die von R. Koch und Gaffky festgestellten Merkmale nicht besaßen, als „Bacillen des malignen Oedems“ bezeichneten, so können wir ihnen die Berechtigung hierzu nicht einräumen, auch wenn sie mit denselben bei Versuchstieren ein dem von R. Koch und Gaffky beschriebenen ähnliches Krankheitsbild erzeugen konnten. Andererseits wieder halten wir es gleichfalls für unrichtig, Bacillen schlechtweg als solche des „malignen Oedems“ im Sinne von R. Koch und Gaffky zu bezeichnen, welche in ihrem sonstigen Verhalten mit den Angaben der beiden genannten Autoren zwar mehr oder weniger übereinstimmen, jedoch nicht im stande waren, das „maligne Oedem“ bei Tieren hervorzurufen.

Und als insonderheit verwirrend müssen wir die Einführung des Namens „neuer Bacillus des malignen Oedems“ bezeichnen, weil durch diese Bezeichnung über die pathologisch-anatomische Seite der Arbeiten von R. Koch und Gaffky das ätiologische Moment, welches von diesen Autoren in dem „Bacillus des malignen Oedems“ festgestellt wurde, ganz ungerechtfertigt vernachlässigt wird¹⁾.

1) Anmerkung: Auf die Frage der sogenannten „Pseudoödembacillen“ — ein Name, der gleichfalls ein Sammelname ist — wollen wir hier nicht eingehen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten tuberkulöser Tiere gegen die subkutane Infektion mit Tuberkelbacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der kgl. Universität Neapel.
Dir. Prof. de Giaxa.]

Von Dr. **Faustino Alfredo della Cella.**

In folgendem berichte ich über Versuche, die ich angestellt habe, um zu sehen, was für lokale Veränderungen das subkutane Einimpfen von Tuberkelbacillen bei tuberkulösen Tieren verursacht.

Die TB.-Kultur, die zu meiner Verfügung stand, war eine ziemlich virulente: $\frac{1}{2}$ Oese, intravenös injiziert, verursachte bei Meerschweinchen den Tod in ca. 2 Wochen.

Nach vielen Vorversuchen gelang es mir, festzustellen, daß bei Injektion $\frac{1}{30}$ Oese der Verlauf der Infektion ein viel langsamerer war. Durch geeignete Ernährung konnte ich bei diesen Tieren die Abnahme des Körpergewichts in bestimmten Schranken halten.

Es wurden 10 Meerschweinchen infiziert. Zwei solcher Tiere wurden 20 Tage nach der Infektion, subkutan in der Bauchgegend, mit $\frac{1}{30}$ Oese TB. zugleich mit 2 Kontrolltieren injiziert. Bei den Kontrolltieren war am folgenden Tage keine deutliche Reaktion der Hautstelle wahrzunehmen. Erst 12 Tage nach der Einspritzung bildete sich ein linsengroßes Knötchen, das zuerst ziemlich hart war und später mit Schwellung der Leisten drüsen erweichte und ulcerierte. Bei den tuberkulösen Tieren dagegen war die lokale Reaktion schon am Tage nach der Inokulation eine ziemlich deutliche: die Hautstelle war rot und infiltriert; dann trat Abblassung ein und an der Injektionsstelle war nichts mehr wahrzunehmen.

Daraufhin machte ich denselben Tieren an einer neuen Stelle eine zweite subkutane Einspritzung von $\frac{1}{10}$ Oese TB. 2 Tage nach der Einspritzung bildete sich an der Hautstelle ein Knötchen, das sehr bald ulcerierte. Aber es folgte eine schnelle Heilung, und 15 Tage nach der Inokulation war jedes Zeichen der Injektion verschwunden.

Bei 2 nicht tuberkulösen Tieren verursachte $\frac{1}{10}$ Oese TB., subkutan injiziert, erst 8 Tage nach der Inokulation ein hartes Knötchen, das 14 Tage später ulcerierte, ohne aber die geringste Tendenz zur Heilung zu zeigen. Im Gegenteil nahm das Geschwür immer mehr zu, die regionären Drüsen schwellen und die Vernarbung fand erst 2 Monate nach der Inokulation statt.

Von den 10 Tieren, die ich mit TB. intravenös infiziert hatte, blieben nur noch 6 zur Verfügung, denn 2 waren frühzeitig an allgemeiner Tuberkulose gestorben. Von diesen 6 Tieren infizierte ich je 2 subkutan mit $\frac{1}{10}$ Oese TB., und zwar in Abständen von 15 Tagen, weil ich sehen wollte, ob das lokale Verhalten beim verschiedenen Alter der allgemeinen Infektion Differenzen zeigte. Deutliche Unterschiede waren zwar nicht wahrzunehmen, aber es blieb als konstante Erscheinung die schnelle Bildung des Knötchens an der Injektionsstelle und die rapide Ausheilung und Vernarbung des darauffolgenden Geschwürs, so daß 10–12 Tage nach der subkutanen Einspritzung an der Hautstelle nichts

mehr zu sehen war. Alle Kontrolltiere zeigten eine spätere Knötchenbildung mit träger Tendenz zur Ausheilung.

Bei einigen Tieren wurde nach abgelaufenem lokalen Prozeß noch eine zweite, sogar eine dritte Hautinjektion mit $\frac{1}{10}$ Oese TB. versucht; und im letzten Falle fiel es besonders auf, daß die größte Infiltration am Tage nach der Inokulation wahrzunehmen war, aber ohne Ulcerierung wurde sie allmählich kleiner, fast bis zum Verschwinden.

Bei mehreren solcher Tiere untersuchte ich histologisch die vernarbte Hautstelle und das Knötchen, konnte aber, mit Ausnahme einer kleinzelligen Infiltration, nichts finden, und trotz der spezifischen Färbung wurden nicht einmal in dem Knötchen TB. beobachtet.

Bei den Kontrolltieren dagegen wurde in jenen Stellen stets das Vorhandensein von Tuberkelbacillen und Riesenzellen konstatiert.

Ich bin weit entfernt, aus diesen Versuchen allgemeine Schlüsse zu ziehen, aber man könnte vielleicht mit Recht an eine lokale Immunität der Unterhautzellgewebe denken, ebenso wie sie von Blaschko bei der Syphilis angenommen wird. In meinen Versuchen könnte die Abwesenheit der Tuberkelbacillen an der Injektionsstelle der Haut bei tuberkulösen Tieren und die Anwesenheit derselben bei nicht tuberkulösen vielleicht als Folge bakteriolytischer Vorgänge gedeutet werden, die bei tuberkulösen Tieren wegen der erworbenen Immunität sich abspielen.

Neapel, 10. Dezember 1903.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Darmflora.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

Von Dr. **Hugo Weiss.**

Mit 10 Figuren.

Einleitung.

Wer sich eingehend mit dem Studium der Darmbakterien beschäftigt, kennt die Schwierigkeiten, welche sich der Isolierung und Bestimmung der zahlreichen im Darmkanal teils obligat teils fakultativ vorkommenden Arten entgegenstellen. Trotz der großen Zahl der Arbeiten auf diesem Gebiete, sind unsere Kenntnisse darüber unzuverlässig und vor allem ist uns die Rolle, welche die Mikroorganismen beim Verdauungsprozeß spielen, so gut wie unbekannt. Die von den ältesten Autoren aufgestellte Behauptung, daß die Mikroben gar keine Beziehung zu der Verdauung hätten, ist durch die Arbeiten Escherichs¹⁾, Macfadyen, Nencki und Sieber²⁾ u. v. a. längst widerlegt. Trotzdem ist das Ziel nicht erreicht, das unerforschte Gebiet kaum entriert. Am genauesten gekannt sind bisher die Coli-Arten, sowohl in Bezug auf ihr biologisches Verhalten als auch ihre pathogenen Eigenschaften.

1) Escherich, Th., Die Darmbakterien des Säuglings. 1886.

2) Macfadyen, Nencki und Sieber, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. XXVIII. 1891.

Die physiologische Seite der Frage steht noch offen. Höchst rudimentär aber sind unsere Kenntnisse von den übrigen Bacillen und Kokken, die man regelmäßig oder zeitweilig im Darne findet.

Die Hauptschwierigkeit der Arbeit liegt in erster Linie in der Ueberwucherung der obligaten Bakterien der Coli-Gruppe, wenn nicht sehr ausgiebige Verdünnungen gemacht werden.

Heymann hat nun versucht, die Coli-Arten dadurch zu unterdrücken, daß er sich säurehaltiger Nährböden bediente, von der Tatsache ausgehend, daß Coli bei Anwesenheit einer ausreichenden Menge einer Säure nicht gedeiht. Die Wahl dieser Methode gab auch mir die Arbeitsrichtung und den Einteilungsgrund meiner ganzen Arbeit.

Ich prüfte vorerst diejenigen Bakterienarten, welche sich in säurehaltigen Nährböden erhalten und beim Ausstrich aus solchen auf Platten zu wachsen vermögen bzw. aus niederprozentigen in höherprozentige saure Lösungen sich übertragen lassen und darin wachsen. Der Gedanke lag nahe, zu prüfen, ob gerade diese „säureliebenden“ Arten in jenem Abschnitte des Darmkanals gehäuft oder ausschließlich vorkommen, welcher de norma saure Reaktion zeigt, d. i. im Duodenum bis zur Einmündung des Gallenganges.

In die zweite Gruppe würden dann jene Bakterienarten einreihen, welche vorzugsweise oder bloß in alkalischen Nährböden gedeihen, wiederum unter Berücksichtigung der Darmabschnitte mit alkalisch reagierendem Inhalt.

Als dritte Gruppe ließen sich die Anaëroben aufstellen. Abgesehen von den in der einschlägigen Literatur bereits bekannten Tatsachen, hat es sich beim Studium der säureliebenden Bakterien oftmals gezeigt, daß gewisse Arten fakultativ, andere obligat anaërob wachsen. Ich hätte nun von rechtswegen jetzt schon auf dieses wichtige Moment zu achten gehabt; aber mit Rücksicht auf die enorme Komplikation der ohnehin so schwierigen Arbeit habe ich gerade dieses Verhalten einem späteren Studium aufgespart, um einheitlich diese biologische Seite der Darmmikroben zu prüfen. Die Wichtigkeit dieses letzteren Kapitels ist zur Genüge bekannt und es steht außer Frage, daß zahlreiche pathogene Arten in die Gruppe der Anaëroben rangieren. Darauf deuteten einige Stichproben, welche zur Zeit der in unserem Institute erst kürzlich vorgenommenen Untersuchungen über anaërobe Bakterien (Ghon-Sachs¹⁾ von mir gemacht wurden. Das bisher als besonders schwierig und kompliziert geltende Züchtungsverfahren wurde durch die genannten Autoren wesentlich vereinfacht und die Methode zu einer absolut verlässlichen gemacht. Ich bediente mich gleichfalls der Züchtung „in hoher Schicht“, wobei sowohl feste als flüssige Nährböden überschichtet werden können, so daß jeder Zutritt von Sauerstoff von vornherein ausgeschlossen erscheint.

Auch das zweite Verfahren für Plattenkulturen, eine Modifikation der Botkinschen Glocke²⁾, ergab mir positive Resultate für Darmbakterien, so daß ich mich entschloß, diese anaëroben Arten als separate Gruppe zu behandeln.

1) Ghon-Sachs, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakt. d. Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)

2) Botkin, S., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. IX. 1890.

Alle bisher erwähnten Studien beziehen sich in meiner Einteilung auf Bakterien des normalen Darmes.

Es entstand nun die wichtige Frage der Bakterienverhältnisse im kranken Darm: Haben Darmkrankheiten einen wesentlichen Einfluß auf den bakteriologischen Befund bzw. spielen bei gewissen Erkrankungen die als pathogen befundenen Bakterienarten eine Rolle? Schon Escherich und Klein¹⁾ (*Bac. enteritidis sporogenes*) fanden bei gewissen Darmkatarrhen der Säuglinge das Vorherrschen einer Bakterienart, von der angenommen werden konnte, daß sie die Ursache der Erkrankung sei. Es tauchte sogar die Idee auf (Escherich, Brudzinski²⁾), bei einer bestimmten infektiösen Form des Darmkatarrhs der Säuglinge einen therapeutischen Versuch zu machen, indem man nach Prüfung des symbiotischen Verhaltens dieser mit einer zweiten Bakterienart den pathologischen Prozeß durch Infusion einer Bakterienschwemmung der das Wachstum hemmenden Species zum Stillstand bringen wollte. Die Kritik dieses Gedankens sei einer späteren Zeit vorbehalten.

Die Prüfung der Symbiose der einzelnen Arten zur Feststellung der gegenseitigen Beeinflussung ihres Wachstums gehört mit in den Rahmen meiner Arbeit.

Das ungefähr ist der vorläufige Entwurf des Themas, und ich gehe nun daran, die bisherigen Resultate zu besprechen.

I. Gruppe.

Die acidophilen Darmbakterien beim Erwachsenen.

Die Untersuchungen beschränkten sich vorläufig auf Leichenmaterial, damit zu gleicher Zeit mehrere Darmschnitte verwertet werden könnten. Bei möglichst frischen, d. h. nur wenige Stunden post mortem zur Obduktion gelangten, darmgesunden Fällen wurde das Abdomen eröffnet, von dem noch gänzlich unverletzten Darmtrakt drei Abschnitte sorgfältig nach oben und unten (pylorus- und analwärts) abgebunden und abgeschnitten und zwar Duodenum, unteres Ileum und Colon. Die Oberfläche der so gewonnenen Darmstücke wurde hierauf sorgfältig mit der Flamme des Bunsen-Brenners abgesengt und die Därme mit glühenden Instrumenten geöffnet. Mit dem Platinspatel brachte ich dann Partikel des Darminhalts sowohl aus dem Inneren als auch von der Schleimhaut in sterile $\frac{1}{2}$ -proz., 1-proz., 2-proz. und 5-proz. essigsaure Bouillon. Diese Aufschwemmungen blieben 2 Tage lang im Brutschrank bei 37° Temperatur. Von Vorteil ist es, zu der essigsauren Bouillon auch etwas Traubenzucker hinzuzufügen.

Am 3. Tage wurden auf Agar- und Zuckeragarplatten Ausstriche gemacht. Man hat darauf zu achten, daß die abgesetzten Sedimente während der Zeit des Aufenthalts im Brutofen nochmals kräftig durchgeschüttelt werden, damit die Essigsäure gleichmäßig einwirke und nicht Klumpen entstehen, in deren Innerem unberührter Darminhalt bleibt. Denn es könnte geschehen, daß aus diesem beim Ausstrich *Coli*-Kolonieen aufgehen. Unter diesen Kautelen gehen nun auf den Platten in 1—2 Tagen verschiedenartige Kolonieen auf, welche bequem isoliert und der Reihe nach durchgeführt werden können. Wie aus der

1) Klein, E., Ueber einen pathogenen anaëroben Darmbacillus. (Centralbl. f. Bakt. 1895.)

2) Brudzinski, Jahrb. f. Kinderh. Bd. LII. 3. Folge Bd. II. 1900. p. 469.

Darstellung hervorgeht, ist es gänzlich überflüssig, wie bisher geübt, starke Verdünnungen des Darminhaltes anzulegen, weil ein massenhaftes Ueberwuchern der Platten, namentlich mit Coli-Arten, sicher unterbleibt und im Gegenteile zumeist die Aussaat der gedeihenden Kolonien eine relativ spärliche wird.

Und nun noch ein Wort zur Bereitung der essigsäuren Bouillon.

Zu der auf gewöhnliche Weise bereiteten, jedoch nicht alkalisch gemachten Bouillon wird mit der Pipette die entsprechende Menge konzentrierter Essigsäure hinzugefügt; die so entstandene essigsäure Bouillon muß im strömenden Wasserdampf sterilisiert werden und über Nacht stehen, denn die Essigsäure bewirkt eine Trübung, die nach längerer Zeit schwindet, dafür aber ein Sediment verursacht, das sorgfältig durch Doppelfilter beseitigt werden muß. Das Filtrat muß nun abermals sterilisiert (zuweilen ein drittes Mal) werden und dann erst ist die Bouillon klar und gebrauchsfähig.

Reinkulturen.

Da man es hier mit wenig oder gar nicht gekannten Bakterienarten zu tun hat, so war es von Wichtigkeit, die auf den Platten gewachsenen Kolonien genau zu beschreiben und zur Erkenntnis der mikroskopischen Form Deckglaspräparate anzufertigen. Die letzteren wurden nach der Gramschen Färbemethode behandelt, weil gerade das mikrochemische, d. h. tinktorielle Verhalten der nach dieser Methode gewonnenen Arten diagnostische Bedeutung hat. Die nächste Sorge ist, die Stämme zu Tierversuchen anzufertigen. Das geschah auf schiefer erstarrtem Agar oder, wo dasselbe keinen günstigen Nährboden abgab, auf Zuckeragar. Zugleich wurde das Wachstum im Stiche der genannten Agarsorten geprüft. Behufs Erforschung der Säurebildung bezw. des Gärungsvermögens wurden Zuckeragarschüttelkulturen angelegt. Nur dort, wo die erwähnten Nährböden ein zu zartes Wachstum lieferten, wurde Blut- oder Serumagar verwendet. Des weiteren kamen Kulturen in neutraler Bouillon und Peptonwasser in Betracht und wurde in letzterem die Indolreaktion geprüft. Ferner prüfte ich das Gedeihen auf Kartoffel und die Beweglichkeit. Für das physiologische Moment mußte auf das Verhalten der Bakterienarten zur Milch- und Eiweißzersetzung gesehen werden, sowie auf die Entwicklung von Schwefelwasserstoff (durch Bleiacetatpapier).

Endlich untersuchte ich sorgfältig die Ueberimpfbarkeit aus einer essigsäuren Lösung in die nächst höherprozentige, um zu sehen, bei welcher Konzentration das Wachstum aufhört resp. geringer wird oder ob sich die Formen den stärker sauren Medium accomodieren, wobei auf eventuelle Aenderung der Formen und ihrer Färbbarkeit geachtet wurde.

In solcher Art habe ich eine größere Anzahl von Fällen untersucht, von denen 10 voll ausgewertet werden konnten. Es fanden sich fast regelmäßig wiederkehrend folgende Arten.

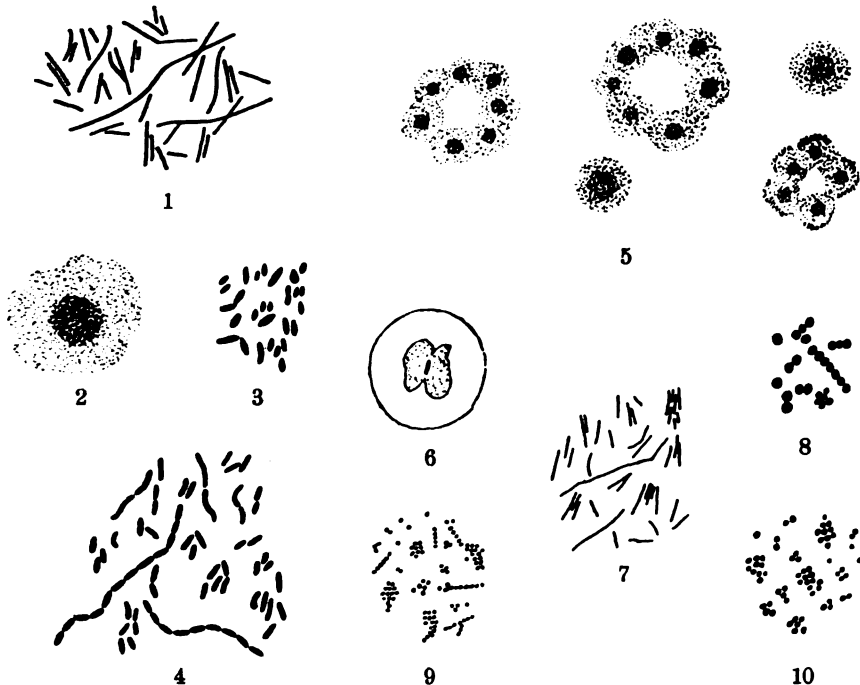
1. Bakterienart.

Lange, schlanke Stäbchen, homogen, teils einzelstehend, teils zu kleinen Büscheln gruppiert, mit scharf abgehackten Enden, keinerlei Verdickungen zeigend, gerade oder leicht gekrümmt, zu langen Fäden auswachsend, gleichmäßig grampositiv gefärbt. Im Klatschpräparat schöne haarlockig geformte, wirr durcheinander geschlungene Fäden. Keine Sporenbildung erkennbar (Fig. 1).

Im hängenden Tropfen langsame, pendelnde Molekularbewegung, keine Eigenbewegung.

Auf der aëroben Agarplatte erscheinen die Kolonien zart, grau, durchscheinend, ziemlich üppig gewachsen, nicht konfluierend, rund, punktförmig bis stecknadelkopfgroß, mit einem leichten, fast wasserhellen Halo, dichterem Zentrum und unregelmäßigem Rande versehen (Fig. 2). Bei schwacher Vergrößerung (Zeiss Ok. 3, Obj. A) schwärzliche Brocken im Zentrum zeigend, die Oberfläche fein gestrichelt, an der Peripherie farblose, arkadenartig geschlungene Fäden sichtbar, die sich mit in die Umgebung erstrecken. Bei stärkerer Vergrößerung (Zeiss Ok. 3, Obj. C) dasselbe Bild deutlicher. Der Eindruck bei starker Vergrößerung ähnelt dem der oberflächlichen Milzbrandkolonien (Haarlocken).

Auf schiefer Agar bilden sie einen zarten, matt glänzenden, lappig begrenzten Rasen nach 2-tägigem Aufenthalt im Brutofen. Man erkennt mit der Lupe deutlich die charakteristischen, oben beschriebenen, halonierten Kolonien.



(Schwache Vergrößerung.)

Am Agarstich ziemlich gutes Wachstum längs des ganzen Stichkanals, weißliche Trübung des umgebenden Agars. — Besonders gut gedeiht diese Art bei Anwesenheit von Zucker.

Im Zuckeragarstich auffallend üppiges Wachstum im ganzen Stichkanal, dichte, weiße Trübung des Zuckeragars (starker Säurebildner).

Zuckeragarschüttelkultur: Die ganze Agarsäule bis auf den Grund der Epruvette milchig weiß getrübt und von zahllosen punktförmigen Kolonien durchsetzt. In den Verdünnungen wachsen letztere bis zu Stecknadelkopfgroße aus, trüben den nächst umgebenden Agar, so daß sie wie in einen Nebel gehüllt erscheinen. In der Tiefe der Epruvette mäßige Gasbildung.

Zuckeragarschüttelkulturen mit Erhitzen auf 75—80° und Ueberschichtung mit verflüssigtem Agar zeigt ebenso üppiges Wachstum vom Boden bis zur Oberfläche, ja bis ins Ueberschichtungsmedium hinein (Diffusionsvorgang). Die Bacillen wachsen aërob und fakultativ anaërob.

Auf der Kartoffel entsteht nach 24 Stunden ein dünner, feuchtglänzender, fettig aussehender, farbloser Belag.

Der Gelatinestich zeigt kein Wachstum und keine Verflüssigung. Desgleichen bleibt die Gelatineplatte steril. Also kein Wachstum bei Zimmertemperatur (18—21°).

Gut wächst der Bacillus in flüssigen Medien:

In Fleischbrühe bildet er nach wenigen Tagen ein boden- und wandständiges, ziemlich festhaftendes, graurötliches Sediment, indes das übrige Menstruum klar bleibt. Beim Ausschütteln schwimmt das Sediment in zusammenhängenden, watteähnlichen Stücken auf und verursacht keine wolkige Trübung der Brühe.

In Peptonwasser schon nach 24 Stunden spärliche Sedimentbildung, das gleichfalls fädig aufwirbelt.

Indolreaktion negativ (nach 8 Tagen).

Milch zeigt nach einigen (3—4) Tagen homogene, labartige Gerinnung, zuerst in der Tiefe, dann im ganzen Reagenzglas.

Ueberimpfungen aus schwachsaurer in stärker saure Bouillon gelingt leicht:

Aus $\frac{1}{10}$ -proz. in 1-proz., von da in 2-proz., 5-proz. und 10-proz., wobei sich nach wenigen Tagen wieder das reichliche boden- und wandständige Sediment entwickelt, das beim Aufschütteln in dichten Wolken aufwirbelt. Die in schwachen Lösungen auftretenden, fädigen, zusammenhängenden Fetzen verlieren sich in starken Lösungen und an ihre Stelle tritt ein feingrieseliger, wolkiger Bodensatz. Die Gram-Präparate aus letzterem zeigen zartere und kürzere Formen der Bacillen, die Färbung nach Gram erhält sich unverändert fort.

Auffallend ist, daß der Bacillus innerhalb gewisser Säuregrade um so reichlicheres Sediment bildet, in je stärker saure Lösungen er geimpft wird, d. h. daß er sich nicht allein der Säure accommodiert, sondern daß sich sogar sein Wachstum entsprechend dem Säuregrad proportional zu verbessern scheint. Dagegen erzielt man in

10-proz. essigsaurer Bouillon nach einigen Tagen nur ein ganz spärliches Sediment.

Eiweißverdauung negativ.

Schwefelwasserstoff wird nicht entwickelt.

Provenienz: Dieser Bacillus geht am häufigsten aus Dickdarminhalt, seltener aus Ileum auf, meist aus schwachsauren ($\frac{1}{10}$ —1-proz., sehr selten 2-proz. Lösungen).

Pathogenität. Er ist für Tiere (weiße Mäuse) weder bei subkutaner, noch bei intraperitonealer Injektion pathogen.

Diese, nahezu aus jedem Falle reingezüchtete Species stimmt in ihrem Aussehen und kulturellen Verhalten mit dem von Moro¹⁾, Finkelstein²⁾ und Rodella³⁾ aus Säuglingsstühlen gewonnenen *Bacillus acidophilus* überein, wobei es irrelevant war, ob der Säugling mit Brustmilch, Kuhmilch oder Mehlabkochung gefüttert worden war. Moro fand ihn auch im Mundsekret und Mageninhalt der Säuglinge, sowie in Frauenmilch, in den äußeren Ausführungsgängen der Brustdrüsen, auf der Warzenhaut und Brusthaut neben dem Soorpilz. Sein vorzüglichster Aufenthaltsort ist das mittlere Colon, das Colon ascendens und Rektum, seltener die oberen Partien des Darmes, besonders des Dünndarmes, wo sich vorwiegend *Coli* und *Bact. lactis Escherich* findet. Seinem Aussehen und biologischen Verhalten nach wird der *Bacillus acidophilus* der Gruppe der Streptotricheen ange-reiht. Er wächst nach den genannten Autoren aërob und fakultativ anaërob, wofür die tiefen, überschichteten Kulturen und die Sedimentbildung in den flüssigen Nährmedien zeugen. Wie der *Bacillus acidophilus*, gedeiht auch die von mir gefundene Species besonders gut bei Anwesenheit von Zucker, weshalb es sich empfiehlt, von vorn-

1) Moro, Jahrb. f. Kinderh. Bd. LII. 3. Folge Bd. II. 1900.

2) Finkelstein, Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXII. 1900. No. 16.

3) Rodella, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 717.

herein die Aufschwemmung in zuckerhaltiger, essigsaurer Bouillon vorzunehmen und davon auf Zuckeragar auszustreichen.

Die Wahl der Säure ist, wie Moro betont, gleichgültig und so kann die Essigsäure auch durch Milch-, Butter-, Ameisen-, Oxal-, Salicylsäure oder auch durch mineralische Säuren, wie Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure, in entsprechend niedrigem Prozentsatz ersetzt werden.

Der *Bacillus acidophilus* gedeiht nicht allein in sauren Lösungen, sondern ist, wie aus den Untersuchungen hervorgeht, selbst auch ein starker Säurebildner und Gaserzeuger. Seine Eigenschaft, Milch zur Gerinnung zu bringen und Zucker unter Gasbildung zu vergären, sowie sein konstantes Vorkommen im Darmkanal gestattet vielleicht einen Schluß auf seinen Anteil bei der Verdauung. Denn es war in meinen Fällen auffallend, daß die Hauptnahrung der meisten von mir zur Untersuchung gewählten Fälle die letzte Lebenszeit über aus Milch bestanden hatte, wie ich aus Mitteilungen der Kliniker in Erfahrung gebracht habe.

Charakteristisch ist auch das refraktäre Verhalten dieses *Bacillus* zur Gelatine.

2. Bakterienart.

Kurze, plumpe, an den Enden abgerundete oder leicht spitz zulaufende wie lanzettförmige Bacillen, faß-, walzen- oder biskuitartig, zuweilen wie große Kokken aussehend, meist einzelstehend, zu zweien oder zu kleinen Häufchen gruppiert. Fädenbildung fehlt. Färbungsverhalten grampositiv (Fig. 3).

Im hängenden Tropfen lebhaft oscillierende Molekularbewegung, keine Eigenbewegung. Auf der Agarplatte erscheinen die Kolonien dieser Bacillenart als winzig kleine, dicht aneinandergereihte Schüppchen, die beim starken Auswachsen bis Hirsekorngröße erreichen. Junge Kolonien sind fast farblos, im durchfallenden Lichte gelblich, im Zentrum dichter als an der Peripherie, Rand zart, feine Zacken aufweisend, die sich bei stärkerer Vergrößerung als feine Ausläufer von Bacillenhäufchen darstellen. Im Zentrum sind bisweilen bräunliche, bröcklige Massen zu sehen. Aeltere Kolonien nehmen nahezu Kuppelform an, bleiben rund begrenzt, ändern sich aber in der Farbe, indem sie gelb werden. Sie konfluieren zu einem saftig glänzenden Rasen. Bei genügender Vergrößerung sieht die Oberfläche gestichelt und gekörnt aus. Auf schiefelem Agar erscheint schon nach 1—2 Tagen ein üppiger, saftiger, glänzender Rasen, auf die Strichfigur beschränkt, dessen Rand dick, aufgeworfen und scharf gegen die Umgebung abgesetzt ist. In der Mitte des Bandes tiefe Riffung, streifiges Anhäufen von dichter gewachsenen Kolonienmassen. Im Agarstich zartes, schleierartiges Wachstum, welches nach oben zu sich bedeutend verdichtet. Um die Einstichöffnung herum ein breiter Rasen von gelblicher Farbe und saftig glänzendem Aussehen.

Noch deutlicher wird diese Art des Wachstums im Zuckeragarstich, worin die Bacillen vorzugsweise aërob wachsen, ca. 2 cm weit im Stichkanal dicht, weiter unten sehr zart, in der Tiefe gar nicht. Der gelbliche Oberflächenrasen ist hier noch stärker ausgebildet als im Agarstich. Der Zuckeragar selbst bleibt klar und licht bis auf den obersten Anteil, in welchem Wachstum besteht und wo er rotbraun getrübt wird.

Die Zuckeragarschüttelkultur zeigt dicht gereichte, punktförmige Kolonien im oberen Anteil, besonders an der Oberfläche. Der Agar bleibt klar, nur unter der Oberfläche entsteht ein opaker, weißlicher Ring von Kolonien mit Oberflächenrasen.

Auf der Kartoffel wächst nach 24 Stunden ein succulenter, feucht glänzender, scharf begrenzter, gelblicher Rasen, der die typischen, grampositiven Bacillen aufweist.

Gelatinestich: Gutes Wachstum längs des ganzen Stichkanals, besonders dicht in den oberen Partien; knopfartige Verdickungen an den Enden des Stiches (nagelförmiges Wachstum), keine Verflüssigung.

Gelatineplatte: Sehr üppig gewachsene, weiße bis gelbliche Kolonien, winzig klein, die jedoch zu breiten, kuppenförmig erhabenen, fettig glänzenden Kolonien von Mohnkorngröße auszuwachsen vermögen.

In flüssigen Nährböden ist das Verhalten folgendes:

In Fleischbrühe entsteht nach 2 Tagen diffuse Trübung, starke Sedimentbildung sowohl am Boden des Reagenzglases als auch an seinen Wänden. Oberflächenhäutchen; keine Fädenbildung. Desgleichen tritt im Peptonwasser schon

nach 24 Stunden leichte, diffuse Trübung und ein feiner Niederschlag auf, der beim Aufschütteln fädig aufsteigt und Wolken bildet, die sich sofort zerstreuen.

Indolreaktion nach 2-tägigem Aufenthalt im Brutofen positiv (deutliche Rotfärbung).

Milch verändert sich erst nach längerem Verweilen im Brutschrank. Es tritt lockere Gerinnung mit saurer Reaktion auf.

Übertragungen in höherprozentige essigsäure Bouillon gelingen gut.

In 1-proz. essigsaurer Bouillon erscheint schon nach 2 Tagen ein reichliches bodenständiges Sediment von gelblich-grauer Farbe. Bouillon klar.

In 2-proz. Bouillon nach mehreren Tagen reiche Sedimentbildung von gleicher Farbe. Alle Sedimente weisen die grampositiven Bacillen auf.

In 5-proz. essigsaurer Bouillon fädiges, graues, bodenständiges Sediment, spärlich gewachsen; beim Schütteln zarte Wölkchen. In stärker sauren Lösungen kein Wachstum.

Eiweißverdauung negativ.

Schwefelwasserstoffentwicklung negativ.

Provenienz: Dieser Bacillus geht aus schwach sauren ($\frac{1}{4}$ -proz.) Lösungen, aus Duodeninhalt auf. Andere Darmpartien haben denselben nicht geliefert.

Pathogenität: Auch hier gelang es nicht, einen krankmachenden Einfluß auf Tiere (weiße Mäuse) nachzuweisen, trotzdem große Mengen der Bacillenaufschwemmung subkutan und intraperitoneal injiziert worden waren.

Es handelt sich hier also um eine Bakterienart, welche vorzugsweise im sauren Darminhalt (Duodenum) auftritt. Seiner Wuchsform nach ist es ein grampositives Kurzstäbchen ohne Eigenbewegung, das wegen seiner Plumpheit und Gedrungenheit auffällt und zuweilen einem Diplococcus nicht unähnlich sieht, doch ist die Stäbchenform, namentlich auf älteren Gelatine- und Kartoffelkulturen, deutlich beibehalten. Bildung gegliederter Fäden fehlt immer. Fast auf allen Nährböden gelingt die Züchtung dieses Bacillus sehr leicht, besonders gut auf der Gelatine, auf welcher die sonst kleinen, zarten Kolonien beträchtlich auszuwachsen vermögen. Die Anwesenheit von Zucker im Nährboden fördert sein Wachstum; doch ist andererseits ein vergärender Einfluß auf Zucker mit Gasbildung nicht wahrzunehmen.

Von großer Wichtigkeit ist nun das ausgesprochen aërobe Wachstum dieser Species, dann aber ihr Verhalten zur Milch und zu sauren Nährböden. In ersterer tritt nach mehrtägigem Verweilen im Brutschrank Gerinnung ein, an letztere akkomodieren sich die Bacillen gut und gedeihen auch bei Vorhandensein von relativ viel Säure, bis 5 Proz. Diagnostisch von Bedeutung ist noch die Indolbildung.

Bei der Artbestimmung läßt sich der Bacillus mit einiger Sicherheit der Gruppe der saprophytischen, nicht pathogenen Arten anreihen. Es kamen hierbei differentialdiagnostisch zwei bereits bekannte Formen in Betracht: der Hueppe'sche Milchsäurebacillus und das *Bacterium lactis aërogenes* Escherich.

Hueppe¹⁾ fand in sauer gewordener roher Kuhmilch konstant eine Bakterienart, welche die Fähigkeit besitzt, den Milchzucker der Milch und ebenso den Zucker der künstlichen Nährböden unter Bildung von Milchsäure zu zerlegen. Er züchtete seinen Bacillus auf zuckerhaltiger Nährgelatine. Das Aussehen und tinktorielle Verhalten stimmt mit dem unserer zweiten Art überein, nicht minder die Gelatinekolonien, sowie die übrigen kulturellen Eigenschaften. Auch der Hueppe'sche Bacillus ist wie der unserige kein Gasbildner und dürfte die stete Ursache der spontanen Milchgerinnung sein.

Viel Aehnlichkeit hat der in Rede stehende Bacillus auch mit dem

1) Hueppe, Mitteilungen a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. 1884. — Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 778.

von Escherich¹⁾ im Darmkanal mit Milch genährter Tiere und Menschen konstant und reichlich vorgefundenen *Bacterium lactis aërogenes*. Er nennt ihn den „Darmmilchsäurebacillus“ oder den „Milchsäurebacillus“ schlechtweg und betont die Unterschiede zwischen ihm und dem Hueppeschen Bacillus, trotz der vielfachen kongruenten Eigenschaften. Das Schwergewicht ruht hier auf der unbedingten Notwendigkeit von Sauerstoffzufuhr beim Hueppeschen Mikroorganismus im Gegensatz zur Möglichkeit der anaëroben Vermehrung des Escherichschen Bacillus in Milch, Milchezucker- und Traubenzuckerlösungen unter Entwicklung von Kohlensäure und Wasserstoff, d. h. unter Gasbildung.

Escherich nannte daher seine Form *Bact. lactis aërogenes* und hebt hervor, daß die ursprüngliche Ansicht Hueppes von der Einheitlichkeit eines spezifischen milchsäurevergärenden Mikroorganismus zweifellos eine irrige sei, da es eine ganze Gruppe von Bakterien mit dieser Eigenschaft gebe. Zu diesem Schlusse kam auch ich durch meine Untersuchungen, welche in jedem Falle mehrere, sowohl der äußeren Form nach als auch kulturell verschiedene Bakterienarten aus dem Darmkanal des Erwachsenen zu Tage förderten, die alle Milch zu vergären vermochten.

Dem Gesagten zufolge läßt sich mit Wahrscheinlichkeit das annehmen, daß meine Art II identisch sei mit dem Hueppeschen Bacillus, weil die Gasbildung und enorme Vergärungsfähigkeit fehlt. Es handelt sich also schlechtweg um einen Milchsäurebacillus. — Hier läßt sich auch der Gedanke nicht zurückweisen, daß dieser Mikroorganismus in meinen Fällen wieder deshalb so oft auftrat, weil, wie erwähnt, die Nahrung in den letzten Lebenstagen vorzugsweise aus Milch bestand.

8. Bakterienart.

Plumpe, gleichmäßig dicke Bacillen, gerade oder leicht gekrümmt, an den Enden abgerundet oder lanzettartig zugespitzt, kurze und lange Formen, einzelstehend, zu zweien, zu kleinen Gruppen, Ketten und Fäden angeordnet, in denen die Einzelindividuen deutlich abgesetzt erscheinen. Sie färben sich grampositiv (Fig. 4).

Sporenbildung nicht nachweisbar.

Im hängenden Tropfen träge oscillatorische Molekularbewegung und langsame Eigenbewegung der Bacillen.

Agarplatte: Zarte, kleine, grauweiße opake Kolonien, matt glänzend, wenig über die Oberfläche erhaben, sternförmig, wie haarig aussehend, nicht konfluierend. Sehr charakteristisch und eigentümlich ist die zuweilen auftretende, schon mit unbewaffnetem Auge leicht erkennbare Gruppierung dieser Kolonien. Mehrere (5—7) sind nämlich um ein helles Zentrum im Kreise so geschart, daß sie gleichsam einen Kranz bilden (Kranzkolonien) (Fig. 5).

Bei schwacher Vergrößerung (Ok. 3 Obj. A Zeiss) zeigen sich gezackte Ränder, grob granuliert Oberfläche, braune Brocken im verdichteten Zentrum. Die Gesamtfarbe der Kolonien ist im durchfallenden Lichte gelblich-braun. Bei stärkerer Vergrößerung (Obj. C) unterscheidet man deutliche Schlingen und Fäden, vom Rande aus in die Umgebung sich erstreckend.

Schiefer Agar. Nach 2 Tagen spärliches Wachstum als dünner, matter Rasen, dessen Rand unregelmäßig gelappt ist.

Agarstich. Sehr üppiges Wachstum den ganzen Stichkanal entlang, an der Oberfläche ein gelblich-weißer, üppiger, aufgeworfener Rasen. Der umgebende Agar getrübt.

Zuckeragarstich. Noch üppiger, gewachsen; der ganze Kanal voll Kolonien, die Umgebung dicht getrübt und braun verfärbt, Oberfläche zu beiden Seiten der Ein-

1) Escherich, Theod., Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. Fortschr. d. Med. Bd. III. 1885. No. 16. 17. — Derselbe, Die Darmbakterien des Säuglings. 1886.

stichstelle von weißlichen dünnem Rasen umgeben (Fig. 6). Einzelne Kolonien bis zu Hirsekorngröße ausgewachsen. Unterster Abschnitt des Zuckeragars klar.

Zuckeragarschüttelkultur. In der 1. Verdünnung ist der ganze Agar durchsetzt von zahllosen punktförmigen, gelblich-weißen Kolonien; der Agar durchweg grauweiß getrübt, kein Oberflächenwachstum. In der 2. und 3. Verdünnung spärliche, groß ausgewachsene Kolonien mit dicht getrübttem Hof. (Säurebildner).

Kartoffel. Zarter, matter Belag.

Gelatinestich. Anfangs gar kein Wachstum; nach 3 Tagen am Eingang zum Stichkanal und an der Oberfläche der Gelatine ein zarter, grauer Schleier. Keine Verflüssigung. Aérobcs Gedeihen, das nach einer weiteren Woche noch deutlicher wird.

Gelatineplatte. Nach 5 Tagen ganz spärliche Kolonienbildung, zuweilen Sterilbleiben der Platten.

Fleischbrühe. Nach einigen Tagen reich entwickeltes, wand- und bodenständiges Sediment, unterster Abschnitt der Bouillon getrübt, oberer klar.

Peptonwasser. Nach 2 Tagen spärliches, graues Sediment, das beim Aufschütteln in zarten Wölkchen emporsteigt. Klarbleiben des Menstruums.

Indolreaktion negativ.

Milch anfangs unverändert; am 3. Tage starke klumpige Gerinnung. Saure Reaktion.

In 1-proz. essigsaurer Bouillon nach einigen Tagen reichliches Sediment von grauer Farbe, aus den beschriebenen grampositiven Bacillen bestehend.

In 2-proz. essigsaurer Bouillon (aus 1-proz. weitergeimpft) ebensolches Verhalten.

In 5-proz. Bouillon körniges, reichliches Sediment, boden- und wandständig.

Eiweißverdauung negativ.

Schwefelwasserstoffbildung fehlt.

Provenienz. Der Bacillus geht in schwachsauren ($\frac{1}{2}$ p-roz.) Lösungen aus Ileum- und Coloninhalt, nie aus Duodenum, ziemlich selten auf.

Pathogenität geht ihm für Mäuse ab.

Bei dieser dritten Art handelt es sich also um ein träge bewegliches, grampositives Kurzstäbchen, das auf allen gebräuchlichen Nährböden gedeiht, am schlechtesten auf der Gelatine, die es nicht verflüssigt.

Es wächst vorzugsweise aérob, aber auch fakultativ anaérob und hat eine, allerdings nicht immer erscheinende, eigentümliche Form der Kolonien. Dieser Mikroorganismus ist ein Säurebildner und wächst auch selbst gut in sauren Nährböden. Er koaguliert rasch die Milch, hat aber keinen Einfluß auf Eiweiß.

Seine Artbestimmung ist eine schwierige. Er hat Aehnlichkeit mit dem von Ciechomski und Jakowski¹⁾ als No. 1 beschriebenen Stäbchen, wie es die Autoren bei einem Falle aus Dünndarminhalt reingezüchtet haben. Sie schildern ihren Bacillus als ein kurzes, nicht allzu dickes Stäbchen, mit trägen Bewegungen, ohne Sporenbildung, schwachem Wachstum auf Gelatine in Form von weißlichen oder graugelben Kolonien, mit ungleichmäßigen, gezackten Rändern, die Mitte etwas erhaben, Gelatine nicht verflüssigend, auf Agar gut, spärlich auf Kartoffel wachsend, aérob und anaérob. Ihr Bakterium erwies sich für Kaninchen und Meerschweinchen pathogen, indem es nach subkutaner Einverleibung nach 2—3 Tagen unter Diarrhöe, Hyperämie der Darm-schleimhaut und Milztumor zum Tode führte. Die Autoren halten den Bacillus für identisch mit dem Bact. Bischleri. Dieses letztere findet sich in der Arbeit von Macfadyen, Nencki und Sieber: Untersuchungen über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm (s. o.) erwähnt. Es hat in der Form viel Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli commune und wurde von Bischler aus dem Ileum bei Fleischkost isoliert. Er beschreibt es gleichfalls als Kurzstäbchen von 4 μ Länge, 3 μ Breite, gewöhnlich zu zweien verbunden, ohne

1) Ciechomski und Jakowski. Arch. f. klin. Chir. Bd. XLVIII. 1894.

eruierte Eigenbewegung und Sporenbildung, das die Gelatine nicht verflüssigt. Seine Gelatineplattenkolonien waren in der Tiefe gelblich, an der Oberfläche matt-weiß; in Stichkulturen schlechtes Wachstum als kleine weißliche Köpfchen; zarter, unregelmäßiger Oberflächenbelag. Ähnliches Verhalten auf Agar. Milch wird bei Brüttemperatur in 22 Stunden zur Gerinnung gebracht, bei Zimmertemperatur in 5 bis 6 Tagen. Meerschweinchen wurden nach Infektion von aufgeschwemmten Kulturen in 2—3 Tagen getötet. Zucker wurde vergärt, Eiweiß nicht beeinflusst. Das mikroskopische Aussehen des *Bacterium Bischleri* stimmt mit dem unserer Art überein bis auf die zeitweise erscheinende merkwürdige Form der Kolonien, die sich durch mehrere Generationen erhielt. Dieselbe findet sich in der einschlägigen Literatur nicht verzeichnet. Die weitere Differenz, die sich beim Vergleiche der beiden Arten ergibt, die Pathogenität betreffend, entstand wohl dadurch, daß ich meine Versuche nur an weißen Mäusen vornahm und erst im Falle eines positiven Ausfalls derselben, auf größere Tiere überzugehen beabsichtigte.

4. Bakterienart.

Zartes, gleichmäßig dünnes Stäbchen, ziemlich klein, zu längeren Fäden aneinandergereiht, meist gerade, selten leicht gekrümmt, an den Enden spitz zulaufend, zu zweien und in ganzen Gruppen stehend, grampositiv, dem mikroskopischen Bilde nach wie verlängerte Tuberkelbacillen aussehend (Fig. 7).

Sporenbildung nicht nachweisbar.

Im hängenden Tropfen langsame Molekular-, keine Eigenbewegung.

Agarplatte. Spärlich gewachsene, äußerst zarte, winzig kleine, tautropfenähnliche, graue Kolonien, im Zentrum dichter als am Rand. Bei schwacher Vergrößerung feine Stichelung zeigend, im durchfallenden Licht gelblichen Stich; bei starker Vergrößerung wird die Strichelung deutlicher, am Rande ragen die wasserhellen Bacillen heraus, wodurch derselbe fein zerrissen aussieht.

Schiefer Agar. Gutes Wachstum als graue, mattglänzende, zarte Membran, welche deutlich die punktförmigen Kolonien unterscheiden läßt.

Agarstich. Die oberste Partie des Stichkanals zeigt Trübung des Agars bis ca. 1 cm von der Oberfläche entfernt; daselbst innerhalb des Stichts dichtes, breites, graues Band; weiter abwärts kein Wachstum. Sehr gut entwickelter Rasen um den Stichkanaleingang, wenig glänzend, seine Oberfläche gewellt, lappig begrenzt. Also obligat aërobes Wachstum.

Zuckeragarstich: Nach 24 Stunden zartes Wachstum im Stichkanal, wiederum nur auf den obersten Abschnitt beschränkt; die Oberfläche von einem grauweißen Rasen eingenommen. Der Zuckeragar klar.

Zuckeragarschüttelkultur. Exquisit aërobes Wachstum; an der Oberfläche und 2—3 mm darunter ein homogener grauer Ring aus dichtgedrängten, punktförmigen zahllosen Kolonien bestehend, darunter klarer Agar.

Kartoffel. Nach 24 Stunden üppiger, hellglänzender, feuchter Rasen, unregelmäßig begrenzt.

Gelatinestich: Nach 5 Tagen deutliches Wachstum längs des ganzen Stichts bei Zimmertemperatur, ramifiziertes Band mit deutlichen Ausläufern in die Gelatine vom Stich aus (federbartähnlich). Sehr dichtes, üppig gewachsenes Oberflächenhäutchen von grauweißer Farbe; oberste Partie der Gelatine, ca. 1 cm von oben verflüssigt.

Gelatinestrichplatte. Nach 1 Tag bei Zimmertemperatur reichliche, zarte Häufchen, einen dünnen, schmalen Rasen bildend.

Fleischbrühe. Klarbleiben der Bouillon, dichtes, graugelbliches Sediment am Boden der Eprovette (nach 6 Tagen). Beim Aufschütteln watteähnliche Fetzen und Fäden. Sehr stark entwickeltes Oberflächenhäutchen, ein trüber Ring oben, nach 10-tägigem Verweilen im Brutschrank.

Peptonwasser. Nach 24 Stunden leichte Trübung, geringes graues Sediment. Indolreaktion negativ (nach einigen Tagen).

Milch. Erst am 5. Tage zweiseichtige Gerinnung, oben das Kasein in Stücken, unten trübe, feinflockige Molke.

1-proz. essigsäure Bouillon: Nach einigen Tagen ausgiebiges Sediment von grauer Farbe (im Gram-Präparate die identischen Bacillen).

2-proz. essigs. B. aus 1-proz. weitergeimpft: reiches bräunlich-graues Sediment, das beim Schütteln in dichten, zusammenhängenden Flocken aufwirbelt.

5-proz. essigsäure Bouillon wiederum das bräunlich-graue Sediment, bodenständig. Bouillon überall klar.

In stärkeren Lösungen kein Wachstum.

Eiweißverdauung: Stücke geronnenen Pferdeserums werden nach ca. 2 Wochen in einer mit den Bacillen beschickten leicht alkalischen Bouillon fast gänzlich aufgelöst.

Schwefelwasserstoffentwicklung. Im Verlaufe der gleichen Zeit (2 Wochen) erscheint ein Bleiacetpapierstreifen gebräunt, was auf Entwicklung von H_2S deutet.

Provenienz. Diese Art wurde aus Coloninhalt gewonnen, der in $\frac{1}{2}$ -proz. essigsaurer Bouillon gehalten worden war.

Pathogenität. Für weiße Mäuse, subkutan und intraperitoneal geimpft, nicht nachweisbar.

Fassen wir das Ergebnis der Untersuchung der 4. Art zusammen, so haben wir einen schlanken, grampositiven Bacillus vor uns, der auf allen gebräuchlichen Nährböden nicht üppig und ausschließlich aërob gedeiht (Oberflächenhäutchen, Mangel an Tiefenwachstum), die Gelatine verflüssigt, sich an saure Lösungen gut anpaßt, vor allem aber Eiweiß verdaut und Schwefelwasserstoff entwickelt. Er ist also möglicherweise ein physiologisch aktiver Mikrobe, der seinen Anteil an der Eiweißverdauung haben mag und als eigenes Stoffwechselprodukt Schwefelwasserstoff erzeugt. Der Bacillus fand sich in Coloninhalt, woselbst, bekanntlich der H_2S als Normalbestandteil zu dem dort vorkommenden Gasegemenge gehört.

Unter den bereits beschriebenen Darmbakterien ähnelt er noch am meisten dem *Bacillus liquefaciens ilei* von Macfadyen, Nencki und Sieber. Auch dieser ist ein feines, schlankes Stäbchen ohne Sporenbildung, der auf der Gelatine zart wächst und im Stiche schlauchförmige Verflüssigung verursacht; das Wachstum auf Agar in der Bouillon, worin ein Oberflächenhäutchen erscheint, und die Zersetzung von Fleisch lassen ihn als nahen Verwandten, wenn nicht als identisch mit dem von mir beschriebenen Mikroben erkennen. Die bei unserem Bacillus zustande gekommene Milchgerinnung bildet allerdings ein differierendes Moment, weil der *Bac. liquefac. ilei* die Milch unverändert läßt.

Neben den bisher erwähnten Mikroben fand ich nahezu mit konstanter Regelmäßigkeit drei Kokkenarten, welche sich in sauren Nährböden mit großer Widerstandsfähigkeit erhalten.

5. Bakterienart.

Grampositive, große runde Kokken, zu Paaren und Gruppen stehend, auch kurze Ketten bildend, die sich fast immer als die bekannten Diplo-Streptokokken des Darmes aus seinem Inhalt herauszüchten lassen, wobei es auf die Beschaffenheit des Züchtungsmediums gar nicht ankommt. Sie erscheinen stets auch im nativen Präparate aus Darminhalt, sind grampositiv und fallen durch ihre enorme Größe auf. Kapseln ließen sich nicht nachweisen (Fig. 8).

Im hängenden Tropfen zeigen sie langsame Molekular-, keine Eigenbewegung. Agarplatte. Mäßig üppig gewachsene, runde, streng isolierte, kuppelförmige, durchscheinend graue Kolonien; bei schwacher Vergrößerung feine Körnung der Oberfläche zeigend. Der Rand zerzaust.

Schiefer Agar. Das Wachstum auf der ganzen Fläche ein recht gutes als gelblich-weißes, mattglänzendes, breites Band mit höckeriger Oberfläche, lappiger Begrenzung, wobei sich größere und kleinere Kolonieengruppen leicht unterscheiden lassen.

Agarstich. Außerordentlich üppiges Wachstum schon nach 24 Stunden mit deutlich unterscheidbaren gelblichen Knöpfchen. Am 4. Tage erscheint der Agar in der Umgebung des Stichkanals wolzig getrübt. Gelblich-weißer Oberflächenrasen um die Einstichstelle herum.

Zuckeragarstich. Im ganzen Stich dichtes Wachstum, keine Trübung des Agars, Oberflächenrasen von graugelblicher Farbe, besonders dicht am Eingang des Kanals, aufgeworfene Ränder.

Zuckeragarschüttelkultur. Ueppiges Wachstum im ganzen Agar, kleine

und bis mohnkorngroße Kolonien; bräunliche Verfärbung des Agars, namentlich im oberen Abschnitt.

Kartoffel. Nach 24 Stunden gut gewachsener, schwefelgelber, hoher, unregelmäßig begrenzter Rasen, matt trocken aussehend.

Gelatinestich. Sehr zartes Wachstum in der oberen Hälfte des Stichkanals als feiner gelblich-weißer Schleier, keine Verflüssigung.

Gelatinestrichplatte. Ueppig gewachsener, gelber Rasen, fettig glänzend, über die Oberfläche hoch erhaben. Beim Oeffnen der Petrischen Schale penetranter Fäulnisgeruch.

Fleischbrühe. Nach mehreren Tagen ein boden- und wandständiges Sediment von grau gelber Farbe; Klarbleiben der Bouillon; beim Aufschütteln fädige Wolken.

Peptonwasser. Nach 24 Stunden geringes Sediment, das beim Schütteln fädig aufwirbelt, Flüssigkeit klar. Nach einigen Tagen etwas reichlicher gelber Bodensatz, die Flüssigkeit getrübt.

Indolreaktion nach 48-stündigem Verweilen im Brutofen deutlich positiv.

Milch bleibt nach langer Beobachtung unverändert.

In 2-proz. essigsaurer Bouillon spärliches Sediment, nach einigen Tagen fädig oder in zarten Wölkchen aufsteigend.

In 5-proz. essigsaurer Bouillon aus 2-proz. B. spärliches graues Sediment. In 10 Proz. B. kein Wachstum.

Eiweißverdauung negativ.

H₂S-Entwicklung negativ.

Provenienz: Diese Kokkenart wurde aus $\frac{1}{3}$ - und 1-proz. essigsaurer Aufschwemmung des Duodenal- und Coloninhaltes erhalten.

Dieser so häufig vorkommende und leicht züchtbare Coccus findet sich bei den Autoren nicht erwähnt, bis auf Ciechomski und Jakowski, welche eine ähnliche Beschreibung ihrer 3. Art der „großen, beweglichen Diplokokken“ geben. Sie bezeichnen dieselbe als den Gonokokken ähnlich, weil sie oft zu diesen stehen und halten ihn für identisch mit dem *Diplococcus albus intestinorum*. Mir ist es bisher nicht gelungen, diese Art der Anordnung meiner Kokken zu finden. — Auch sie wachsen langsam auf Gelatine ohne dieselbe zu verflüssigen, auf Platten bilden sie weißliche, hervorragende, deutlich gezeichnete Kolonien, ebenso auf Agar. Sie bilden kein Gas und wachsen bei Zimmer- und Bruttemperatur, fakultativ anaërob. Sie sind für Tiere nicht pathogen.

6. Bakterienart.

Kleine, grampositive Kokken, einzelstehend, zu zweien und größere Gruppen bildend, auch zu kurzen Ketten geordnet (Fig. 9).

Im hängenden Tropfen äußerst langsame Molekularbewegung, keine Lokomotion.

Agarplatte. Kleine runde, spärlich gewachsene, nicht konfluierende, grau durchscheinende Kolonien, gries-, bis hirsekorngroß auswachsend, gleichmäßig fein gekörnt. Unter stärkerer Vergrößerung erscheint der Rand fein gezackt. Nach ca. 10 Tagen wachsen die Kolonien üppiger aus, behalten jedoch ihre angegebenen Charaktere bei.

Schiefer Agar. Gut gewachsen, als flaches mattgraues Band, opak, am Rand isolierte Kolonien zeigend.

Agarstich. Ueppig gewachsener, dichter Streifen in der oberen Hälfte des Stichkanals, während schon 3 cm von der Oberfläche entfernt das Wachstum äußerst zart wird, unten gänzlich ausbleibt (aërob).

Zuckeragarstich. Aërobes Wachstum im oberen Abschnitte des Stiches, bis ca. 3 cm von der Oberfläche reichend. Um den Eingang zum Stichkanal gewulstete Ueberwucherung. Der Zuckeragar klar.

Zuckeragarschüttelkultur. Ein ca. 2 cm breiter grauer Ring von punktförmigen Kolonien gebildet im obersten Abschnitt des Zuckeragars, darunter steriler klarer Agar.

Kartoffel. Kein deutliches Wachstum.

Gelatinestich. Nach 2 Tagen üppiges Wachstum bei Zimmertemperatur als breites, graues, punktiertes Band; kein Oberflächenwachstum, keine Verflüssigung.

Gelatinestrichplatte. Winzig kleine, graue, durchscheinende dicht aneinandergereihte Kolonien, in der ganzen Breite der Striche gewachsen, nicht konfluierend.

Das äußerst zarte Band aus lauter feinen grauen Punkten zusammengesetzt, wie gestichelt.

Fleischbrühe. Nach 6 Tagen diffuse Trübung der Bacillen, körniges, grauweißes Sediment, das beim Aufschütteln in breiten Wolken aufgeht.

Peptonwasser. Nach 24 Stunden klare Flüssigkeit, ziemlich reiches Sediment, grauweiß, beim Aufschütteln wolkig. Nach einigen Tagen diffuse Trübung mit Vermehrung des Niederschlags.

Indolreaktion nach 8 Tagen noch negativ.

Milch gerinnt nicht.

In essigsäuren Lösungen mit höherem Prozentsatz spärliches Gedeihen.

In 5-proz. essigsaurer Bouillon nach einigen Tagen minimaler Bodensatz, der beim Schütteln fädig aufsteigt; Klarbleiben der Bouillon.

In 10-proz. essigsaurer Bouillon dasselbe Verhalten. Die Gramfärbung gut erhalten.

Eiweißverdauung negativ.

H₂S-Bildung negativ.

Provenienz. Diese Kokken gingen aus Coloninhalt in $\frac{1}{2}$ -proz. und 2-proz. essigsäuren Aufschwemmungen auf.

Dem mikroskopischen Bilde nach scheint es sich hier um einen Streptococcus zu handeln, wegen seiner Tendenz zur Kettenbildung, obwohl die Ketten nie lang zu werden pflegen, auch nicht in flüssigen Nährböden. Er stimmt in seinen charakteristischen Eigenschaften mit den aus dem Darm gezüchteten Streptokokken der anderen Autoren nicht überein, in erster Linie deshalb, weil er die Gelatine fest läßt. Auch sein übriges Verhalten spricht für eine recht passive Rolle, die derselbe im Darmkanal spielen dürfte (so daß man ihn, der sich häufig vorfinden ließ, als unschuldigen Saprophyten bezeichnen kann). Er hat weder Einfluß auf Milch noch auf Eiweiß.

7. Bakterienart.

In der Größe die vorige Art etwas überragend, ist eine durch ihr Verhalten zur Gelatine und ihr übriges Wachstum streng charakterisierte Kokkenart. Sie stellt mittelgroße, grampositive, ganz runde Kokken dar, die einzeln, zu zweien und in unregelmäßigen Häufchen stehen und keinerlei Kettenbildung zeigen (Fig. 10).

Im hängenden Tropfen sehr lebhaft, tanzende Molekularbewegung, keine Eigenbewegung.

Agarplatte. Saftige, porzellanartig glänzende, weiße, succulente Kolonien. stecknadelkopf- bis hanfkorngroß, zu breiten Rasen konfluierend über die Oberfläche hoch erhaben, oft linsenförmig, undurchsichtig. Bei starker Vergrößerung feine parallele Streifung zeigend.

Schiefer Agar. Saftiges weißes, dichtes, glänzendes Band.

Agarstich. Im oberen Anteil des Stichkanals Wachstum eines weißen Streifens; um die Einstichstelle herum wulstige, weiße lippenartige Begrenzung.

Zuckeragarstich. Dichtes, weißes Oberflächenhäutchen, gutes Wachstum im Kanal, weißliche Trübung des Agars.

Zuckeragarschüttelkultur. Weißlichgrauer Ring an der Oberfläche, weißliche Trübung des ganzen Agars, punktförmige Kolonien nur im obersten Anteil.

Kartoffel. Dicker, weißer zerfließender Rasen.

Gelatinestich. Nach 2 Tagen schlauchförmige Verflüssigung mit reichlicher Sedimentbildung im untersten Abschnitt des Trichters. Weißes Häutchen in der verflüssigten Partie am Eingang des Schlauches (Kahmhaut). Die verflüssigte Gelatine leicht getrübt.

Gelatinestichplatte. Weiße, rundliche Kolonien, die langsam den Nährboden verflüssigen.

Fleischbrühe. Nach einigen Tagen diffuse Trübung mit spärlichem flockigem Sediment.

Peptonwasser nach 4 Tagen Trübung des ganzen Mediums, flockiges, fädiges Sediment, das beim Schütteln zusammengebacken bleibt.

Indolreaktion negativ. Eiweißverdauung negativ.

Milch nicht geronnen.

Provenienz. Es gelang, diese Kokken nur aus den oberen Darmabschnitten, Duodenum und Ileum in 1 Proz. essigs. Bouillon reinzuzüchten.

Es handelt sich also um einen *Staphylococcus*, der vorzugsweise *aëro* wächst, sehr charakteristische, weiße succulente Rasen bildet, Säure produziert (Zersetzung des Zuckers) und die Gelatine rasch verflüssigt.

Am meisten ähnelt er dem von Escherich im Säuglingsdarm gefundenen „weißen verflüssigenden *Staphylococcus*“. Er ist ein fakultatives Darmmikrobium.

Angelo Cipollina¹⁾ fand bei seinen Untersuchungen mit essigsaurer Bouillon neben dem gewöhnlichen *Bacillus acidophilus* Moro und dem *Bacillus lactis acidi* Hueppe in einem Falle von Tuberc. pulm. einen eingekapselten *Diplococcus*, der Milch zur Gerinnung bringt, ferner in einem Falle von Carcinom des Magens einen *Bacillus acidophilus filiformis*, der seiner Form nach meiner 4. Art ähnelt, jedoch seinem biologischen Verhalten nach gänzlich different ist; er wächst schlecht in einfacher Bouillon, läßt Milch unverändert, verflüssigt die Gelatine nicht und erzeugt weder Säure noch Gas.

Mit den bisher angeführten Bakterienarten ist die Reihe der aus sauren Lösungen gewonnenen keineswegs abgeschlossen; es haben sich daneben noch fakultative Species gezeigt, die in der ganzen Versuchsreihe immer nur einmal aufgetaucht sind und deren Reinzüchtung entweder nicht gelang, weil nicht sofort der richtige Nährboden gewählt worden war, oder die von vornherein als zufälliger Nebenbefund erkannt wurden z. B. Bacillen der Pseudodiphtheriegruppe. Auffallend war, daß bei dieser Art der Untersuchung des Darminhalts keiner der im Darm vorkommenden Sprosspilze, resp. Hefearten, aufging, wie sie von Nothnagel, Escherich, Boas, Macfadyen, Nencki und Sieber als regelmäßige Bewohner des Darms gefunden wurden. Dies hängt zweifellos mit dem Vorhandensein der Säure zusammen; denn ich konnte mich überzeugen, daß bei meinen Versuchen mit essigsauerm Agar, der zu Platten gegossen war, niemals Schimmelpilze oder irgend eine der gewöhnlichen, störenden Verunreinigungen wachsen (Luftkeime), selbst wenn die Platten offen durch mehrere Wochen im Zimmer stehen gelassen wurden.

Eine regelmäßige Verwendung der sauren Agarplatten erwies sich als unzureichend, weil es sich zeigte, daß der Agar nur geringe Mengen Säure verträgt, da er sich milchig-weiß verfärbt und vollkommen undurchsichtig wird, andererseits auf schwachsauren Platten keine anderen Kolonien aufgehen als auf gewöhnlichem Agar oder Zuckeragar mit dem Ausstrich aus essigsaurer Bouillon.

Fasse ich nun die Resultate meiner bisherigen Untersuchungen zusammen, so ergibt sich:

1) Mit Hilfe der Heymannschen Methode (Aufschwemmung von Darminhalt in essigsaurer Bouillon) gelingt es auf einfache Weise die Bacillen der Coli-Gruppe zu unterdrücken und eine Reihe anderer Darmbakterien reinzuzüchten, ohne daß man vom Darminhalt starke Verdünnungen anzulegen genötigt ist.

2) Es gibt eine ganze Gruppe (7 und mehr) von Bakterien (Bacillen und Kokken), die bei Anwesenheit von Säure gedeihen (acidophile Mikroorganismen).

3) Man kann gewisse Bakterienarten durch successive Ueberimpfung an hohe Säuregrade gewöhnen.

1) Cipollina, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.

4) Es scheint, daß das gehäufte Vorkommen von acidophilen Bakterien an das Vorhandensein von säureerzeugenden Nahrungsmitteln, insbesondere Milch, gebunden ist.

5) Einige Arten dieser Gruppe scheinen bis zu einem gewissen Grade bei den Zersetzungs Vorgängen der Darmingesta eine Rolle zu spielen, indem sie teils Säurebildner teils Eiweißlöser und Schwefelwasserstoffherzeuger sind.

6) Pathogenität kommt diesen acidophilen Bakterien nicht zu.

Zum Schluß dieses ersten Abschnittes nehme ich gern Gelegenheit, Herrn Hofrat Professor Dr. A. Weichselbaum und seinem Assistenten Professor Dr. A. Ghon für das fördernde Interesse, das sie an meiner Arbeit genommen haben, meinen ergebensten Dank zu sagen.

Nachdruck verboten.

A propos de l'agent de la fermentation butyrique (unbeweglicher Buttersäurebacillus) décrit par Schattenfroh et Grassberger¹⁾.

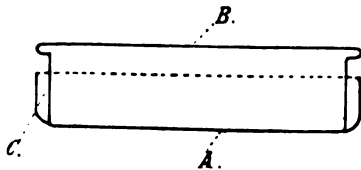
Par le Dr. L. Jacqué,

Assistant à l'Institut de sérothérapie de Bruxelles.

Avec 1 figure.

La modification, proposée par Schattenfroh et Grassberger, de la méthode de Botkin, donne d'excellents résultats. On peut même dire que pour la culture de certains anaérobies très peu résistants elle peut devenir très utile, sinon indispensable. Il n'en reste pourtant pas moins vrai que ce procédé nécessite l'emploi d'un appareil encombrant et coûteux, qu'il demande beaucoup de temps et de peines, raisons suffisantes pour n'en faire usage que là où les circonstances le commandent: Et tel n'est pas le cas en ce qui concerne l'isolement du bacille en question, pour lequel les plaques de Stüler nous ont donné pleine satisfaction.

Il est probable que cette méthode a été peu employée jusqu'ici, car il nous fut impossible d'en trouver mention dans la littérature. Son auteur ne l'a d'ailleurs pas publiée. On la trouvera cependant renseignée dans le traité de Emmerich et Trillich²⁾. Les plaques de Stüler³⁾ sont composées de deux parties (fig.): Le fond *A*, analogue à celui des boîtes de Petri ordinaires, est absolument plan. Le couvercle *B*, s'emboîte dans le fond. L'espace circulaire *C*, compris entre *A* et *B*, a une largeur de 2 à 4 millimètres.



(Il est utile que *C* ne compte pas moins de 3 mm; une largeur moindre rend plus difficile l'introduction des pipettes et de l'appareil destiné à

1) Schattenfroh und Grassberger, Ueber Buttersäuregärung. I. Abhandlung. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. p. 54—103.)

2) Emmerich und Trillich, Anleitung zu hygienischen Untersuchungen. 3. Aufl. p. 356 u. 357.

3) En vente chez Hegershof à Leipzig.

rétablir la pression atmosphérique à l'intérieur de la plaque — voir plus loin — augmente la tendance au débordement.) Enfin *B* surplombe par son bord supérieur la rainure *C*.

Le principe appliqué ici est celui de la méthode de Buchner (absorption de l'oxygène par le pyrogallol en solution alcaline). Voici comment nous procédons: La plaque reposant sur le couvercle, on verse dans celui-ci la gélatine ou la gélose qu'on laisse se prendre. Alors on retourne la plaque (comme le montre la fig.) et introduit 2 g de pyrogallol en substance¹⁾ en *A*. On y verse ensuite 20 ccm de KOH à 10% contenus préalablement dans un verre, ce qui permet d'opérer plus vite qu'avec une pipette. Aussitôt l'alcali versé, on remet délicatement, mais rapidement, le couvercle à sa place. On répand alors en *C*, au moyen d'une pipette, environ 5 ccm de paraffine liquide, pour éviter l'absorption de l'oxygène atmosphérique et l'évaporation de la solution alcaline. L'absorption de l'oxygène, dans l'espace circonscrit par la plaque, ne tarde pas à déterminer le relèvement du niveau de la solution de pyrogallol à l'intérieur de la plaque, son abaissement en *C*. Pour éviter que ce processus n'amène l'entrée de la paraffine d'abord, de bulles d'air ensuite, à l'intérieur, on ajoute, en temps opportun, au moyen d'une pipette, la quantité nécessaire de KOH à 10%, et ce en deux ou trois fois. On met à l'étuve, directement s'il s'agit de cultures pures d'anaérobies, après un séjour de 24 h à la glacière, si on a affaire à un mélange d'aérobies et d'anaérobies. Par mesure de propreté, surtout s'il s'agit d'un agent producteur de gaz, on mettra les plaques dans un cristalliseur, le développement des gaz pouvant expulser une partie du liquide hors des plaques.

Pour ouvrir les plaques, il faut agir avec lenteur et prudence, afin d'éviter que le rétablissement brusque de l'égalité de pression ne produise des éclaboussures de pyrogallol sur la surface de culture.

Quand on a correctement opéré, la solution absorbante conserve une teinte brun clair et reste transparente (immédiatement après la préparation des plaques, la solution de pyrogallol est opaque pour ne devenir transparente que lorsque la dissolution est complète). On peut lire un texte de journal p. ex. lorsqu'on intercale une telle plaque entre ce texte et l'œil.

Cette méthode, employée comme nous venons de l'indiquer, nous a donné les résultats les plus satisfaisants et a parfaitement remplacé l'appareil de Schattenfroh et Grassberger. Il serait à souhaiter que les plaques de Stüler (que nous avons démontrées à Bruxelles au congrès international d'hygiène et de démographie) soient adoptées dans tous les laboratoires.

Nous devons à la complaisance du Dr. Stüler, que nous tenons à remercier ici, les renseignements suivants sur la façon dont il opère lui-même: Pyrogallol en substance; addition de 30 ccm environ de KOH diluée au dixième; séjour de 24 h au froid; addition de la quantité nécessaire de KOH diluée et enfin de paraffine liquide.

Il nous est avis qu'on pourrait éventuellement améliorer encore le procédé, en travaillant comme suit: Verser 10 ccm de solution de pyrogallol à 20%, neutre ou légèrement acide, fraîchement bouillie et refroidie à 40° environ; puis la paraffine; enfin, au moyen d'une pipette, en plusieurs fois, 25 ccm environ de KOH à 15% fraîchement bouilli.

1) On se servira avec avantage des tablettes de pyrogallol recommandées par v. Oettingen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. Heft III. p. 476.)

L'agent de la fermentation butyrique meurt après un temps fort variable, mais souvent très court (deux jours), dans les milieux de culture, même si on le conserve à l'abri de l'oxygène (voir aussi l'original p. 58). Cette circonstance, très désagréable quand on veut perpétuer une culture nous a engagé à chercher en procédé pratique de conservation des spores.

Une première voie consiste à faire des cultures en plaques de Stüler, sur gélose à l'amidon. Si l'ensemencement est suffisamment riche, il suffira de prélever un fragment quelconque pour obtenir une culture. Une deuxième méthode consiste à ensemercer par piqure des tubes de gélose à l'amidon, à enlever, au moyen d'une anse de platine, la culture sporulée qu'on émulsionne dans un petit volume de solution physiologique. Des fils soie sont plongés dans cette émulsion, puis séchés simplement à l'étuve ou dans un exciccateur à acide sulfurique dans lequel on fait le vide au moyen d'un aspirateur de Bunsen. Une troisième méthode enfin, consiste à faire bouillir des cultures sporulées en tubes de gélose à l'amidon et à prélever un fragment de cette gélose lorsqu'on veut obtenir de nouvelles cultures. De ces trois méthodes la première nous paraît la plus recommandable en ce qu'elle permet d'obtenir facilement un grand nombre de spores (il suffit de faire un ensemencement abondant) et en ce qu'elle est plus sûre que les deux autres, où le stade de sporulation peut faire rapidement place au développement de formes végétatives (voir aussi l'original p. 81).

Nous avons pu constater la survie de spores, obtenues par ces divers procédés, après plus de cinq mois. Nous ne sommes pas en état de donner aujourd'hui déjà la survie maximale.

D'une façon générale les cultures ensemencées avec des spores se développent plus lentement que lorsqu'il s'agit de formes végétatives.

Nous avons pu isoler le bacille de Schattenfroh et Grassberger dans 80 pour cent des échantillons de lait examinés, ce qui concorde avec les données fournies par les auteurs.

Schattenfroh et Grassberger émettent l'hypothèse très probable, que dans la nature leur bacille accomplit sa sporulation dans l'intestin des animaux. Nous avons voulu nous convaincre si cette manière de voir se trouvait confirmée par l'expérimentation, en donnant per os, à des cobayes (soit adultes, soit nouveaux-nés), tantôt de grandes quantités de cultures fraîches sur lait tantôt des spores. Dans aucun de ces cas nous ne vîmes apparaître les spores dans les selles. Ce fait n'a d'ailleurs pas lieu de nous étonner beaucoup, car lors de l'examen des selles de cobayes normaux, nous n'avons trouvé qu'exceptionnellement un petit nombre de spores du bacille de Schattenfroh. La régularité avec laquelle on les trouve au contraire dans les fèces de la vache permet de supposer que la sporulation ne se produirait que chez un certain nombre d'espèces animales.

Nous avons dit plus haut combien est radicale la sporulation sur gélose à l'amidon en plaques de Stüler. Or de telles cultures, abandonnées à 0°, à la température du laboratoire (14 à 20°), à l'étuve à 22° même, ne sporulèrent pas: Nouvelle preuve de l'importance de la température de 37° pour l'accomplissement de la sporulation.

sucrée additionnée de CaCO_3 . La réponse fut négative. Il se développe, il est vrai, des colonies plus exubérantes que sans addition du carbonate; mais, d'une part, la limite de la quantité de CaCO_3 que l'on peut utilement ajouter est bientôt atteinte, et d'autre part, pour ces conditions maximales, le développement s'arrête bien avant que toute la réserve de carbonate ait été consommée.

Le bacille de Schattenfroh et Grassberger pousse bien, avec production de gaz, dans des cultures sur pommes de terre préparées comme suit: On enlève au perce-bouchon un fragment cylindrique, ensemence l'excavation ainsi produite aux dépens d'une culture fraîche de 24 h sur bouillon sucré, remet le fragment à sa place; la pomme de terre est abandonnée dans une chambre humide à 37°.

Schattenfroh et Grassberger ont rencontré des difficultés pour obtenir d'une manière régulière la sporulation. Au début de nos recherches, la sporulation fit défaut, même dans les cultures sur gélose à l'amidon¹⁾. Ces insuccès s'expliquent par deux causes: La première réside dans le fait que le milieu primitivement employé par nous était neutralisé au tournesol (les auteurs ne précisent pas le mode de neutralisation). Or, dans ces conditions, nous ne pûmes observer que dans l'infime minorité des cas un petit nombre de spores, et encore s'agissait-il alors de bacilles cultivés depuis un temps assez long sur milieux artificiels. Au contraire, avec le même milieu neutralisé à la phénolphtaléine, la sporulation se produisit régulièrement, pourvu que l'ensemencement ait été fait avec un bacille isolé depuis un certain temps. La deuxième cause d'insuccès se trouve dans le fait que, lorsque la sporulation ne se produisait pas (même après neutralisation du milieu à la phénolphtaléine) nous pensions qu'il fallait peut-être attribuer ce phénomène à des différences de races; nous prenions alors en expérience un nouvel échantillon de lait, et ainsi de suite. Or les considérations antérieures expliquent suffisamment les résultats négatifs obtenus: Les cultures de bacilles récemment isolés se développent souvent plus violemment et, quand tel est le cas, comme le constatent aussi les auteurs (p. 79), il y a beaucoup moins d'espoir de voir les spores se produire. Il semble, en d'autres termes, que la sporulation sur gélose à l'amidon ne se produise sûrement qu'avec les races cultivées depuis un temps plus ou moins long sur milieux artificiels.

La sporulation, obtenue par Schattenfroh et Grassberger en tubes de Buchner, réussit très bien par la méthode de l'„Ueberschichtung“, ce qui constitue encore une simplification notable.

Malgré tout, la sporulation peut cependant préparer des difficultés. Aussi avons nous cherché à réaliser une méthode plus sûre. Si on fait des cultures en plaques de Stüler sur agar à l'amidon, que l'on ensemence celui-ci avant de le laisser se prendre ou par stries, les germes ne se multiplient pas, ou du moins ne forment pas de colonies perceptibles, et sporulent après un séjour de 48 h à 37°. On peut s'en convaincre d'une manière très simple en portant un fragment d'une telle plaque dans un tube de gélose sucrée, qu'on chauffe ensuite pendant 15 minutes à 100° (ce qui détruit avec certitude les formes végétatives); on laisse refroidir, puis on ajoute quelques ccm de gélose sucrée fraîchement bouillie: La culture se développe parfaitement à 37°.

1) On fera bien d'ajouter d'abord à l'amidon, contenu dans un tube d'essai, un peu d'eau tiède, puis de l'eau bouillante et de mélanger enfin le liquide homogène ainsi obtenu à la gélose liquéfiée.

L'agent de la fermentation butyrique meurt après un temps fort variable, mais souvent très court (deux jours), dans les milieux de culture, même si on le conserve à l'abri de l'oxygène (voir aussi l'original p. 58). Cette circonstance, très désagréable quand on veut perpétuer une culture nous a engagé à chercher en procédé pratique de conservation des spores.

Une première voie consiste à faire des cultures en plaques de Stüler, sur gélose à l'amidon. Si l'ensemencement est suffisamment riche, il suffira de prélever un fragment quelconque pour obtenir une culture. Une deuxième méthode consiste à ensemercer par piqûre des tubes de gélose à l'amidon, à enlever, au moyen d'une anse de platine, la culture sporulée qu'on émulsionne dans un petit volume de solution physiologique. Des fils soie sont plongés dans cette émulsion, puis séchés simplement à l'étuve ou dans un exciccateur à acide sulfurique dans lequel on fait le vide au moyen d'un aspirateur de Bunsen. Une troisième méthode enfin, consiste à faire bouillir des cultures sporulées en tubes de gélose à l'amidon et à prélever un fragment de cette gélose lorsqu'on veut obtenir de nouvelles cultures. De ces trois méthodes la première nous paraît la plus recommandable en ce qu'elle permet d'obtenir facilement un grand nombre de spores (il suffit de faire un ensemencement abondant) et en ce qu'elle est plus sûre que les deux autres, où le stade de sporulation peut faire rapidement place au développement de formes végétatives (voir aussi l'original p. 81).

Nous avons pu constater la survie de spores, obtenues par ces divers procédés, après plus de cinq mois. Nous ne sommes pas en état de donner aujourd'hui déjà la survie maximale.

D'une façon générale les cultures ensemencées avec des spores se développent plus lentement que lorsqu'il s'agit de formes végétatives.

Nous avons pu isoler le bacille de Schattenfroh et Grassberger dans 80 pour cent des échantillons de lait examinés, ce qui concorde avec les données fournies par les auteurs.

Schattenfroh et Grassberger émettent l'hypothèse très probable, que dans la nature leur bacille accomplit sa sporulation dans l'intestin des animaux. Nous avons voulu nous convaincre si cette manière de voir se trouvait confirmée par l'expérimentation, en donnant per os, à des cobayes (soit adultes, soit nouveaux-nés), tantôt de grandes quantités de cultures fraîches sur lait tantôt des spores. Dans aucun de ces cas nous ne vîmes apparaître les spores dans les selles. Ce fait n'a d'ailleurs pas lieu de nous étonner beaucoup, car lors de l'examen des selles de cobayes normaux, nous n'avons trouvé qu'exceptionnellement un petit nombre de spores du bacille de Schattenfroh. La régularité avec laquelle on les trouve au contraire dans les fèces de la vache permet de supposer que la sporulation ne se produirait que chez un certain nombre d'espèces animales.

Nous avons dit plus haut combien est radicale la sporulation sur gélose à l'amidon en plaques de Stüler. Or de telles cultures, abandonnées à 0°, à la température du laboratoire (14 à 20°), à l'étuve à 22° même, ne sporulèrent pas: Nouvelle preuve de l'importance de la température de 37° pour l'accomplissement de la sporulation.

pas patho-
 1. Disons
 d'activité
 génétité en
 le cobaye.
 constater
 ez l'adulte.
 du balon-
 3 ce n'est
 lle devient
 ent de la
 ti n'a pas
 espèces, vu
 nt) amena
 à 75 g et
 res heures
 n par des
 On isola
 n froh et
 isence des

tung“ per-
 acillus“ et
 que recom-

ger peut,
 pour les

* verboten.

rakte.

'en.

tät Turin,
 nettini).]

len Unter-
 mich, daß
 eben sind,
 reres, vor
 verlangte.
 rvorragen-
 genügend
 derselben
 über den

nschr. 1900.
 I.

L'age
variable,
ture, mên
p. 58). C
une cultu
vation de

Une
Stüler,
riche, il
culture.
tubes de
la culture
physiologi
séchés sin
dans lequ
troisième
en tubes
lorsqu'on
première
tenir facil
mencemen
où le stad
de formes

Nous
vers proct
de donner

D'une
développe

Nous
berger c
concorde :

Scha
bable, qu
l'intestin
nière de v
per os, à
quantités
de ces cas
n'a d'aille
des selles
un petit r
rité avec
permet de
certain no

Nous
gélose à l
données à
22° même
températu

Le bacille, en injection sous cutanée, est dans certains cas pathogène pour l'animal, comme l'ont aussi constaté les auteurs¹⁾. Disons seulement que l'injection dans la glande mammaire en état d'activité sécrétoire nous paraît la plus propre à mettre cette pathogénéité en lumière, comme nous l'ont montré quelques expériences sur le cobaye.

Au cours de nos expériences sur le cobaye nous pûmes constater que l'administration per os n'exerce aucune action nuisible chez l'adulte. Chez des cobayes nouveaux-nés il se produit ordinairement du balonnement du ventre et un retard dans le développement. Mais ce n'est que par le concours d'autres causes défavorables que le bacille devient réellement pathogène pour les jeunes individus. L'éloignement de la mère effectué notamment chez un cobaye de 5 jours (ce qui n'a pas ici la signification que cet isolement aurait chez d'autres espèces, vu que le cobaye se nourrit déjà parfaitement d'herbe à ce moment) amena la mort après 5 nouveaux jours, avec chute du poids de 100 à 75 g et abaissement de la température de 37 à 34,5° dans les dernières heures de la vie. A l'autopsie l'estomac était distendu au maximum par des gaz, l'intestin contenant des masses très puantes et des gaz. On isola du contenu stomacal et intestinal le bacille de Schattenfroh et Grassberger, mais il fut impossible d'y démontrer la présence des spores.

Résumons les principales données du présent travail:

Les plaques de Stüler et la méthode de l'„Ueberschichtung“ permettent d'isoler et de cultiver l'„unbewegliche Buttersäurebacillus“ et leur emploi constitue une simplification notable de la technique recommandée par Schattenfroh et Grassberger.

L'ingestion du bacille de Schattenfroh et Grassberger peut, par le concours de causes affaiblissantes, devenir pathogène pour les jeunes cobayes.

Nachdruck verboten.

Ueber die toxische Wirkung einiger Organextrakte. Anatomische und histologische Beobachtungen.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität Turin, Prof. Perroncito (Abteilung geleitet von Prof. Dr. A. Bruschetti).]

Von Dr. Giovanni Ghedini.

In der Mitteilung der ersten Ergebnisse meiner vorliegenden Untersuchungen, die vor einigen Monaten erschien²⁾, beklagte ich mich, daß dieselben bei den aufblühenden Studien beinahe isoliert geblieben sind, obwohl die wissenschaftliche und praktische Medizin ein klareres, vor allem ein sicheres Licht über dieses so viel diskutierte Gebiet verlangte.

In der Tat konnten nicht die Beobachtungen meines hervorragenden Lehrers, Herrn Prof. Foà, über den Nebennierenextrakt genügend sein, obwohl ihre Richtung grundlegend und die Schlüsse derselben wertvoll sind; und auch nicht die Arbeiten von Ferrannini über den

1) Vergl. Schattenfroh et Grassberger, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 30, 31 et 59; 1902. No. 2 et 3. — Arch. f. Hyg. Bd. XLII et XLVIII.

2) Centrabl. f. Bakt. Abt. I. etc. Bd. XXXIV. No. 7.

Herzextrakt; von Albarran und Bernard über den Leber- und Nierenextrakt; von Linossier und Lemoine über das Serum normalen Blutes.

Da ich heute im Begriffe bin, meine Arbeit vollständiger und ausführlicher mitzuteilen, füge ich mit Freude die Untersuchungen von Dr. C. Cafiero hinzu, welcher Schüler des pathologisch-anatomischen Institutes Neapel (geleitet von Prof. O. Schrön) und Verfasser einer ausgezeichneten, die Organextrakte betreffenden Abhandlung ist. Ich erwähne dieselbe hier mit besonderem Interesse, nicht nur wegen ihres Wertes an sich, sondern auch, weil sie die Richtigkeit der von mir vorher schon mitgeteilten Ergebnisse genau bestätigt.

Dr. Cafiero behandelte:

1) eine Reihe von 5 Meerschweinchen mit subkutaner Injektion von Leber-, Milz-, Nieren-, Nebennieren- und Pankreassaft, der von Meerschweinchenorganen gewonnen und mit physiologischer Lösung verdünnt war;

2) intraperitoneal eine Reihe von 8 Enten und eine zweite Reihe von 12 Meerschweinchen mit Säften derselben Organe, die von Kaninchen gewonnen und gleichfalls mit physiologischer Lösung verdünnt waren.

Bei den Tieren der ersten Reihe wurden je 24 Injektionen einer zunehmenden Dosis der aktiven Substanz gemacht (von 0,005—0,24 g).

Bei den Versuchen der zweiten und der dritten Reihe wurden je 6 Einspritzungen vorgenommen, die voneinander durch Zwischenräume von 9 Tagen getrennt waren, und bei denen ebenfalls die Substanzmenge allmählich zunahm für die Enten von 0,12—0,20 g, für die Meerschweinchen von 0,08—0,16 g).

Die Schlüsse, zu denen Dr. Cafiero gelangt ist, sind folgende:

Die Extrakte von Leber, Milz, Nieren, Pankreas, Nebennieren rufen keine spezifischen Läsionen hervor, ohne Unterschied der Applikation und gleichgültig, ob sie zu derselben Art wie das behandelte Tier gehörten oder nicht. Die beständigsten und bemerkenswertesten Läsionen sind folgende:

Die Leber zeigt: Hyperämie, Hämorrhagieen, leukocytäre Infiltration, die Zellen sind entweder atrophisch oder mit trüber Schwellung oder mit vakuolisiertem Protoplasma oder ohne scharfe Konturen, das Bindegewebe ist häufig hyperplastisch.

Die Nieren zeigen: Hyperämie, insbesondere in den Glomerulis, trübe Schwellung und Nekrose der Epithelien, besonders derjenigen, welche die gewundenen Kanälchen und die Henleschen Schleifen bedecken, häufig findet sich glomeruläres Exsudat.

Die Milz zeigt: Hyperämie und Hämorrhagieen, häufig Hyperplasie der Malpighischen Follikel und des Stützbindegewebes und zahlreiche blutpigmenthaltige Zellen.

Schlüsse, welche mit den meinigen in vielen Beziehungen übereinstimmen¹⁾.

Da sich aus diesem Grunde das Vertrauen auf die Richtigkeit meiner Versuche festigte, beeilte ich mich, meine Arbeit zu Ende zu bringen.

1) Die wenigen Abweichungen sind gewiß größtenteils von der etwas verschiedenen Behandlungsmethode und von den gewählten Tieren bedingt.

Untersuchungsmethode.

Wie ich schon erwähnt habe, wählte ich 6 Parenchymorgane zur Gewinnung der Extrakte aus dem Pankreas, den Ovarien, Hoden, Nebennieren, der Schilddrüse, Thymusdrüse — und ein Gewebe, das Nervengewebe.

Diese Organe wurden ausgewählt, weil, mit Ausnahme der Nebennieren, die Wirkungen derselben mit meiner Methode noch nicht untersucht worden waren, und diese Organe gerade bei der Organtherapie den größten Wert besitzen.

Die Tiere, von denen das Pankreas, die Hoden, die Nebennieren, das Nervengewebe genommen wurden, waren immer Meerschweinchen, die billig und leicht zu verschaffen sind; am Anfange der Versuche wurden auch die Ovarien und die Schilddrüsen von Meerschweinchen genommen. Nachdem wir aber mit der Untersuchung der vom Kalbe herrührenden Thymus angefangen hatten, dachten wir daran, auch die Ovarien und die Milchdrüse derselben Tiere zu verwerten, da die der Meerschweinchen sehr klein und arm an wirksamer Substanz sind. Die Meerschweinchen wurden an den für die Einspritzungen bestimmten Tagen durch Verblutung getötet und ihnen die verschiedenen Organe frisch entnommen und vor ihrem Gebrauche einige Minuten lang in ein Chloroformbad eingetaucht. In dasselbe Bad wurden auch die frischen Organe, die vom Kalbe entstammten und deren Sterilität nicht ohne weiteres anzunehmen war ¹⁾, längere Zeit (ca. 1 Stunde) eingelegt.

Dann wurden sie trocken in einer kleinen sterilisierten Porzellschale bis zu einem feinen Brei zerrieben, für die an Bindegewebe reicheren Stücke wurde sterilisierter Glassand angewendet.

Der Brei wurde mit sterilisierter physiologischer Lösung gemischt und in ein geeignetes Gefäß gegossen. Nach einigen Minuten setzten sich die ungelösten Substanzen am Boden ab. War dies geschehen, so wurde, ohne die Lösung durch Papier oder Gaze zu filtrieren — um nicht die Manipulation zu vermehren und um die eventuellen Verunreinigungsursachen zu vermindern — die nötige Extraktmenge mittels der mit der Nadel versehenen Spritze aspiriert und den gewählten Tieren injiziert. Diese waren Hunden, die gewählt wurden, weil sie unter den Laboratoriumstieren die widerstandsfähigsten sind und besser den Erfordernissen einer langen Behandlung entsprechen, injiziert, ferner die Organe (besonders die Leber) der anderen gebräuchlichen Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) sehr häufig von Läsionen parasitärer Herkunft behaftet gefunden werden.

Für die spezielle Untersuchung der Thymusdrüse wurden drei im Laboratorium geborene Lämmchen gebraucht, die sich wegen der langen Persistenz und der erheblicheren Entwicklung der Thymusdrüse, auf die man zu wirken hoffte, mehr eigneten als die Hunde.

Es wurden die Tiere von derselben Art ausgeschlossen, welche die Organe lieferten, nicht nur, weil sonst der Untersuchungsplan zu ausgedehnt worden wäre, sondern auch, weil es unsere Absicht war, in der Substanz und in der Form dasselbe zu wiederholen, was man in der Praxis tat.

Eben daher wurden, um die bekannte Reaktion seitens des Peritoneums und die darauffolgenden Effekte zu vermeiden, die Injektionen

1) Größerer Sicherheit halber wurden immer die Peripherieile eliminiert.

unter die Haut und nicht intraperitoneal, wie es andere machten, ausgeführt.

Die — ausgewachsenen — Hunde und die Lämmer wurden inzwischen unter den besten hygienischen Bedingungen gehalten, mit Luft und Licht und mit gesunder Nahrung versehen, damit jeder äußere schädliche Einfluß auf die eventuell auftretenden Veränderungen ausgeschlossen war. Wenn ein Tier an verdächtiger Erkrankung starb, so wurde es sofort durch ein anderes ersetzt, und so wurden auch jene wenigen Tiere außer acht gelassen, welche trotz der größten Vorsicht irgend einen Absceß zeigten, wenn auch die bakteriologische Untersuchung des Blutes und der Milz negativ ausfiel.

Wegen der Klarheit der Darstellung und der Methode werden in diesbezüglichen Schematen mit zweckmäßigen Bemerkungen mitgeteilt werden: Das Gewicht von jedem Tiere — die Behandlungsdauer — die Injektionszahl — die Menge des Extraktes pro Injektion und seine gesamte Menge — die Dosis der wirksamen Substanz pro Injektion und ihre gesamte Menge. Zur Berechnung derselben wurde das Mittelgewicht der verschiedenen Organe verwertet, von dem der nicht gelöste oder nicht injizierte Teil abgerechnet wurde. Bei der Berechnung, dem Maße und dem Verfahren mußten wir uns mehr von den Kenntnissen und dem persönlichen Urteil leiten lassen, da uns diesbezügliche sichere Daten fehlten.

Allerdings ging mein Streben dahin, daß sich die Periode änderte, daß die Dosis progressiv zunähme und genug verdünnt wäre, damit wir einen recht genauen Begriff von der Extraktwirksamkeit gewinnen und ihre Wirkung mehr gleichmäßig und weniger rasch machen, die Ausdehnung und den Grad der Läsionen besser feststellen können, wir glauben aber, daß die Versuchsanordnung immer noch nicht vollkommen befriedigend ist.

Es bleibt noch zu erwähnen, daß die Tiere größtenteils durch Verblutung, mit vorausgehender leichter Chloroformnarkose, getötet wurden, andere aber durch einen Schlag auf den Kopf, um die Zustände des Blutkreislaufes besser zu beobachten.

Durch die methodisch ausgeführte Autopsie wurden die verschiedenen Organe gesammelt und nach ihrer makroskopischen Untersuchung mit den für die histologische Untersuchung erforderlichen Verfahren behandelt.

Sie wurden in den folgenden Flüssigkeiten fixiert: Alkoholformol 4-proz. — Zencker oder Foà (Müller und Sublimatlösung 5-proz.) — Flemming (starke Osmiumchromessigsäurelösung) — Golgi (langsame Methode: Kaliumbichromatlösung und dann Silbernitratlösungen). Nach den Ausspülungen wurden die Stücke durch die gewöhnlichen Mittel gehärtet (Alkohol) und eingebettet (Paraffin oder Celloidin) und dann wurden die Schnitte gefärbt mit Hämatein oder Chloralhämatoxylin und sehr verdünnter wässriger Eosinlösung; mit Hämatoxylin und van Gieson; mit Saffranin Flemming einfach oder mit Pikrinsäure; mit der Pappenheimschen Flüssigkeit; mit wässriger Thioninlösung; mit Phenolblau (Nervensystem); — bei den (in Alkohol fixierten) Leber- und Nierenschnitten wurde häufig die Jodreaktion von Langhans für das Glykogen und diejenige von Weigert für das Fibrin (Gentianaviolett und Lugol) ausgeführt — bei den Nervensystemschnitten die klassische Methode von Weigert für die Fasern.

Bemerkungen und Befunde.

„Wir haben es vorgezogen, in den folgenden kurzen Listen die bei den einzelnen Versuchen ausgeführte Behandlung darzustellen, damit leichter und schneller die Kenntnisaufnahme derselben gelingt, und so auch die verschiedenen anatomischen und histologischen Befunde in 7 bestimmten Zusammenfassungen zusammenzubringen, um nicht durch zu lange Beschreibungen zu ermüden.“

Es ist wohl weiter zu erwähnen, daß auch normale Organe von durchaus gesunden Hunden und Lämmern gesammelt und untersucht wurden, um sichere Vergleichsmerkmale zu gewinnen.“

Versuch I über den Pankreasextrakt (Meerschweinchen).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behand- lungsdauer	Injek- tionenzahl	Extrakt- menge pro Injektion	Gesamte Extrakt- menge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksam. Substanz	Bemerkungen
Hund A Gew. 2 kg	Vom 11. Dez. bis 23. Febr.	29	von 3 bis 12 ccm	187 ccm	von 0,10 bis 0,50 g	9 g	Bleibt in mäßigem Ernährungszu- stande
Hündin B Gew. 4 kg	vom 13. März bis 14. Mai	29	von 10 bis 30 ccm	500 ccm	von 0,30 bis 1 g	15,50 g	kommt herunter
Hund C Gew. 7,5 kg	vom 23. Mai bis 6. Juli	20	von 20 bis 30 ccm	520 ccm	von 0,60 bis 1 g	17 g	magert etwas ab
Hund D Gew. 6,2 kg	vom 23. Mai bis 20. Juli	27	von 20 bis 30 ccm	610 ccm	von 0,60 bis 1,20 g	20 g	ebenso

Anatomischer Befund:

Ernährung: Mäßig.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Volumen und Gewicht vermehrt. Die Schnittflächen gelbbraun, durch fließende Lymphe feucht.

Speicheldrüsen: Ohne Veränderungen.

Schilddrüse: Volumen, Gewicht, Konsistenz vermehrt. Gelbliche Färbung. Ueber die Schnittfläche ragt eine zähe, gelbliche, durchsichtige Flüssigkeit hervor.

Herz, Lungen, Magen, Darm, Pankreas ohne Veränderungen.

Milz: Volumen, Gewicht, Farbe, Konsistenz unverändert. An der Schnittfläche rotbraun, die Malpighischen Körperchen dicht und groß.

Leber: Volumen und Gewicht beinahe normal. Farbe blaßrot, mit weißgelblichen (anämischen) Flecken. An der Schnittfläche auch breite, unregelmäßige, graugelbliche Zonen; deren Parenchym weich und brüchig.

Nebennieren: Unverändert.

Nieren: Die Kapsel ein wenig gespannt, aber abziehbar. Volumen ein wenig vermehrt. Konsistenz vermindert. Farbe undurchsichtig gelbweißlich. Gut sichtbar die Venulae stellatae. An der Schnittfläche der Rindensubstanz blaß, mit roten Pünktchen und mit rötlichen Streifen, die mit anderen zahlreichen, gelblich glänzenden abwechseln. Die Marksubstanz weiß.

Gehirn, männlicher und weiblicher Geschlechtsapparat unverändert.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und der Inguinalgegend): Bei

den Follikeln und Strängen das Vermehrungszentrum breit und spärlich, die Peripheriezone der lymphocytären Wucherung dicht. Zwischen den Lymphocyten zerstreute oder in kleinen Gruppen von 5 oder 5 Individuen zusammengehäufte Zellen mit rundem, exzentrischem Kerne, mit sichelförmigem Protoplasma, welches von der Pappenheimschen Flüssigkeit rubinrot gefärbt wird (Plasmazellen). Die Plasmazellen sind zahlreicher bei den Strängen, wo auch (Fall III) Zellen mit großem runden oder eirunden, häufig exzentrischen Kern, mit reichem protoplasmatischen Mantel zahlreich auftreten, bei welchem sich gelbrötliche Kügelchen oder Körnchen unterscheiden lassen (rote Blutkörperchen, Detriten derselben und Blutpigment, die von den körnchenhaltigen und pigmenthaltigen Zellen verschlungen sind). Lymphräume erweitert und von spärlichen Lymphocyten und polymorphen Leukocyten, von wenigen Plasmazellen, von verschiedenen blutpigmenthaltigen Zellen, von Hämosiderinkörnchen, von freien spindelförmigen oder sternförmigen Bindegewebsfibrillen, von großen Zellen mit unregelmäßig polyedrischen Konturen (Endothelien), von (Fall IV) zentralen Flöckchen amorpher Substanz (Exsudat) besetzt. Hyperplastische Bindegewebstrabekeln bei dem Falle IV. Gefäße normal, schwach blutüberfüllt.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: Otrikeln sehr erweitert, besonders bei den Fällen III und IV. Viele nehmen mehr als die Hälfte des Gesichtsfeldes ein (Ok. 4, Obj. 5, Koristka), so daß sie an die Struma cystica erinnern. Im Inneren Kolloidsubstanz bei allen und bei einigen gewucherte¹⁾ und abgestoßene Epithelien zwischen derselben. Die Wandzellen gut angeordnet und beschaffen, einige mit geschwollenem, glasartigen Protoplasma (Kolloidzellen von Langendorf). Außergewöhnliche Nebenschilddrüsen vorhanden in Fall IV, normal. Gefäße und Bindegewebe unverändert.

Pancreas: Die Drüsenläppchen besitzen normalerweise ihre kegelförmigen Zellformen, an die Membrana basilaris angelegt, mit eirundem Kern, mit reichlichem Protoplasma, das an dem nach dem Läppchenlumen zugewendeten Ende körnig ist (Zymogengranula). Bei einigen Präparaten sehr deutlich die Inseln von Langerhans. Ausführungskanälchen, Bindegewebe und Gefäße normal.

Milz: Lymphocytäre Wucherung bei den Malpighischen Follikeln, welche bei einigen Fällen (II) $\frac{2}{3}$ des Gesichtsfeldes (Ok. 4, Obj. 5, K.) besetzen. In ihrer Peripherie verschiedene Plasmazellen. In der Pulpa Lymphocyten, polymorphe Leukocyten, Riesenzellen (Fall I und II) mit 4—5 zusammengehäuften und im Zentrum übereinander gelagerten Kernen (Megakaryocyten), einige kleine Haufen Plasmazellen, blutkörperchenhaltige und pigmenthaltige Zellen (besonders bei dem Falle III), freies Blutpigment, viele rote Blutkörperchen (besonders bei den Fällen II und III).

Tigrisches Netz und Bindegewebstrabekeln normal. Gefäße ein wenig überfüllt.

Leber: Sehr viele Drüsenzellenkerne sind verschwunden oder atrophisch. Das Protoplasma einfach spärlich geworden in verschiedenen Zellen, bei der Mehrzahl vollständig oder beinahe vollständig vakuolisiert, so daß allein das Gerüst der Zelle übrig bleibt, nämlich der Kern

1) Nach Torri fehlt niemals die Epithelialwucherung bei den hyperfunktionierenden Schilddrüsen. Mein Befund bestätigt dies.

und die begrenzenden Konturen des Protoplasmas. Hier und da unförmliche Herde, welche aus Protoplasmatriten und einigen Kernen bestehen. Diese Läsionen sind schwer, besonders bei den Fällen I und IV. Die Osmiumreaktion von Flemming weist die Gegenwart spärlicher und feiner schwarzer Fettkörperchen im Protoplasma nach; negativ ist die Weigertsche Reaktion für das Fibrin und fast negativ diejenige von Langaus für das Glykogen. Kleine, zwischen den Zellen und häufiger um die Blutgefäße herum zerstreute Herde, die aus Zellen mit kleinem, sehr färbbarem Kern, mit sehr spärlichem Protoplasma bestehen (Lymphocyten), besonders bei den Fällen III und IV. Bindegewebe, Gallengänge und Blutgefäße normal.

Nebennieren: Unverändert.

Nieren: In der Rinde erscheinen wenige Kanälchen normal beschaffen; die Mehrzahl der gewundenen Kanälchen und der Henleschen Schleifen weisen ihre Epithelien häufig kernlos, mit trübem körnigen oder zerfallenen Protoplasma auf, dessen Detritus das Lumen des Kanälchens besetzt. Die Osmiumreaktion weist große und dichte schwarze Fettkügelchen bei vielen gewundenen Kanälchen und Henleschen Schleifen nach; höchst feine Körnchen im Epithelialprotoplasma bei anderen. Die Weigertsche Reaktion für das Fibrin negativ. Seröses Exsudat im Lumen der Kanälchen und der Glomeruli. Bei den beiden Fällen I und IV Herde von kleinzelliger Infiltration, von denen einige sehr beschränkt, andere erheblicher und sternförmig ausgebreitet sind.

Die Lymphocyten umgeben die Kanälchen und die Glomeruli, welche an der Peripherie des Prozesses ziemlich gut erhalten, im Zentrum, wo der Prozeß älter und intensiver ist, zusammengedrückt und entstellt sind. Gefäße sehr erweitert und voll von Blut; die glomerulären Schleifen auch sehr blutüberfüllt und an Kernen reich. Rote Blutkörperchen und freie Detriten derselben in den interkanalikulären Zwischenräumen. Bindegewebe normal. In der Marksubstanz wird keine Veränderung wahrgenommen, die bemerkenswerte Blutüberfüllung ausgenommen.

Versuch II über den Ovarienextrakt (Meerschweinchen — Kalb).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behandlungsdauer	Injektionszahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksam. Substanz	Bemerkungen
Hündin A. Vom 4. Dez. Gew. 3 kg bis 23. Febr.		32	Von 3 bis 9 ccm	192 ccm	Von 0,10 bis 0,30 g	6,40 g	Ernährung immer mäßig gehalten
Hund B vom 23. März Gew. 6,5kg bis 13. Juni		32	von 10 bis 40 ccm	670 ccm	von 0,30 bis 1 g	19 g	ebenso
Hündin C vom 9. April Gew. 7,8kg bis 29. Juni		27	von 10 bis 40 ccm	560 ccm	von 0,30 bis 1,20 g	16 g	ebenso

Anatomischer Befund:

Ernährung: Gut.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Ihr Volumen gleich großen Mandeln, mit der Schabschnittfläche feucht und rostrotlich.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: Volumen und Konsistenz vermehrt. Schnittfläche wegen reichlicher Kolloidsubstanz klebrig.

Herz, Lungen, Magen, Darm, Pankreas: Unverändert.

Milz: Deutliche Hypertrophie der Malpighischen Follikel.

Leber: Volumen unverändert. Die Schnittfläche sieht wie gekochtes, wenig konsistentes Organ aus.

Nieren: Ausziehbare Kapsel. Farbe der Rinde wachsartig und die *Venulae stellatae* blutüberfüllt. Am Schnitte gelbliche, glänzende, mit anderen rötlichen alternierte Streifen. Kegel weißlich.

Nebennieren, Ovarien und Uterus, Hoden unverändert.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Lymphocytaire Wucherung in den Follikeln und Stränge mäßig bei den ersten zwei Fällen, bei dem letzteren nehmen die Follikel das Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. Lymphräume sehr erweitert und außer den gewöhnlichen Elementen von Plasmazellen, von abgestoßenen Endothelien, von zahlreichen blutpigmenthaltigen Zellen und von freiem Blutpigment ausgefüllt. Bindegewebe trabekeln ein wenig hyperplastisch, beim Fall III Gefäße unverändert.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: Otrikel erweitert und voll von Kolloidsubstanz; die größten nehmen das Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 8+, K.) ein. Beim I. Falle viele kleinere neugebildete Otrikel. Wandepithelien bei einigen Otrikeln gewuchert, Bindegewebe und Gefäße normal.

Pankreas: Unverändert.

Milz: Sehr mäßige Wucherung in den Follikeln (Fall I und II). Erhebliche Wucherung beim III., in dem die breitesten Follikel das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) einnehmen. An der Pulpa erwähnenswert die zahlreichen Megakaryocyten bei den Fällen I und III (4, 5 für jedes Gesichtsfeld), die pigment- und körnchenhaltigen Zellen und die Detriten von Blutkörperchen sind nur im Falle III reichlich. Gefäße und Bindegewebe unverändert.

Leber: Viele Zellkerne verschwunden. Bei allen drei Fällen, besonders aber bei dem III., sehr schwere und ausgebreitete Vakuolisierung des Protoplasmas. Im allgemeinen bleiben von der Leberzelle bloß die Konturen übrig, welche einige Kern- und Protoplasmastückchen einschließen. Oft fehlen auch die Konturen. Die Osmiumreaktion weist die Gegenwart sehr feiner und spärlicher schwarzer Fetttropfen nach. Negativ die Jodreaktion für das Glykogen und jene von Weigert für das Fibrin. Interstitielle Zwischenräume erweitert und nur beim Fall II von roten Blutkörperchen und deren Detriten besetzt. Bei diesem Falle sind auch die Gefäße blutüberfüllt. Das Bindegewebe bei allen drei unverändert.

Nebennieren: Unverändert; bloß im Falle III schwach blutüberfüllt.

Nieren: In der Rinde fehlen viele Kerne der Epithelien der gewundenen und geraden Kanälchen. Das Protoplasma entweder trüb oder ohne scharfe Konturen, flockig, amorph. Die Osmiumreaktion zeigt große schwarze Fetttropfen in den geraden (Fall II) und den gewundenen (Fall III) Kanälchen. Die Weigertsche Reaktion für das Fibrin negativ. Gefäße und glomeruläre Schleifen schwach blutüberfüllt. Freie rote Blutkörperchen in den Interstitien zwischen den Kanälchen. Bindegewebe normal. Marksubstanz unverändert oder fast unverändert.

Ovarien: Marksubstanz reich an schwach blutüberfüllten Gefäßen.

In der Binde substanz werden zahlreiche Follikel in verschiedenen Entwicklungsstadien beobachtet; die sehr jungen, an der peripherischen Schicht gelagert, bestehen, wie normalerweise, aus einem kleinen Ei ohne Dottermembran und aus einer Schicht von niedrigen Zellen; die reifen besitzen das Ei mit der Dotter- und der Körnchenmembran und den begrenzenden Hüllen; die ältesten auch den Cumulus proligerus und Flocken von koaguliertem Liquor folliculi.

Hoden: Unverändert.

Versuch III über den Hodenextrakt (Meerschweinchen).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behandlungsdauer	Injektionenzahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksamen Substanz	Bemerkungen
Hund A Gew. 9 kg	Vom 5. März bis 21. Mai	33	Von 10 bis 30 ccm	465 ccm	Von 0,50 bis 1,50 g	28 g	Sehr lebhaft und mäßig ernährt
Hündin B Gew. 8,5 kg	vom 23. März bis 28. Mai	29	von 10 bis 30 ccm	490 ccm	von 0,50 bis 1,50 g	25 g	ebenso
Hund C Gew. 8 kg	vom 28. Mai bis 18. Juni	24	von 10 bis 20 ccm	440 ccm	von 0,50 bis 2 g	30 g	kam etwas herunter

Anatomischer Befund:

Ernährung: Mäßig.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und der Inguinalgegend): Vergrößert, und zwar von der Größe einer Haselnuß bis zu einem halben Taubenei. Schnittfläche rötlich und durch milchige Flüssigkeit feucht.

Speicheldrüse: Unverändert.

Schilddrüse: Volumen und Gewicht unverändert. Vermehrte Konsistenz. Farbe gelbrötlich.

Herz, Lungen, Magen, Darm, Pankreas: Unverändert.

Milz: Größe normal. Farbe braunrot; starke Hypertrophie der Follikel.

Leber: An der Schnittfläche breite, trübe, gelbliche Flecken.

Nebennieren: Unverändert.

Nieren: Kapsel ausziehbar. Blase Rinde; beim Schnitt glänzende gelbliche Streifen, die mit rötlichen alternieren. Marksubstanz elfenbeinweiß.

Hoden, Ovarien, Uterus, Gehirn: Unverändert.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Starke lymphocytäre Wucherung in den Follikeln und Strängen; die ersteren können, wie beim Falle II, das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) einnehmen. Mäßige Menge von Plasmazellen und sehr zahlreiche blutpigmenthaltige Zellen, besonders in den Fällen II und III. Lymphräume erweitert und von Lymphzellen, von Endothelien, von Hämosiderin, von blutkörperchenhaltigen Zellen und großenteils von den hyperplastischen Bindegewebe strabekeln besetzt. Gefäße unverändert.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Beziehungen zwischen Virulenzmodifikationen des Wutvirus und Veränderungen der Negrischen Körperchen.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Turin. Direktor: Prof. Dr. Pagliani.]

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdozent.

Wenn auch die von Negri aufgefundenen, bekannten intracellulären Körperchen im Nervensystem der wutbehafteten Tiere rasch und vielfach bestätigt wurden (Daddi, Bertarelli und Volpino, Martinotti und Negri), so sind dagegen die auf die Auslegung dieser Körperchen gerichteten Untersuchungen unzureichend geblieben.

Sieht man in der Tat ab von dem, was Negri über die Resistenz dieser Körper gegen Verwesung sagte, sowie von wenigen neu hinzugefügten Tatsachen Daddis und einigen Beobachtungen Volpinos, so findet man keine weiteren Arbeiten vor, die näher auf die wirkliche Bedeutung der Negrischen Körperchen eingehen. Zwar sind einige Schriften erschienen, so die von Di-Vestea (1), Remlinger und Riffat-Bey (2), Schüder (3), Guarnieri (4), von mir selbst und Volpino (5), die in einer anderen Richtung und besonders vom biologischen Gesichtspunkte aus neues Licht auf die Natur des Wuterzeugers zu bringen versuchten (mit denen ich mich gelegentlich einer zusammen mit Volpino ausgeführten Studie über die Wut — die gleichzeitig mit dieser Arbeit erscheinen wird — beschäftigte), doch handelt es sich in diesen Arbeiten nur indirekt um die Interpretation, die das Experiment den Negrischen Körperchen zu geben erlaubt.

Unter den vielen Fragen, die bezüglich des Verhaltens dieser Körperchen sich von selbst stellen, ist eine der einfachsten jedenfalls die, zu erfahren, ob die genannten Körperchen vor, mit oder nach dem Verschwinden der Virulenz des wutinfizierten Großhirns und Kleinhirns sich verändern oder verschwinden.

Negri und Daddi haben zwar behauptet, daß man die Körperchen auch bei in Glycerin aufbewahrttem Virus beobachten könne und ebenso, wenn das Virus infolge Verwesung alteriert ist, sowie unter anderen Verhältnissen, in denen es gewöhnlich noch für wirksam gehalten wird, doch muß dabei auch erwähnt werden, daß die Forscher sich in den einzelnen Fällen nicht bezüglich der effektiven Wirksamkeit des Virus vergewisserten und sich allgemein damit begnügten, es auf Grund der über die Resistenz des Wutvirus erworbenen Erfahrungen für virulent oder nicht virulent zu halten.

Ueberdies waren sie derart von anderen Seiten des Problems in Anspruch genommen, daß sie weder die Zeit noch die Absicht hatten, sich in eine Frage zu vertiefen, die für die Beurteilung der Natur dieser Körperchen von gewissem Interesse sein kann.

So sehr nämlich die Körperchen auch der Verwesung und der Einwirkung des Glycerins widerstehen mochten, so war es doch möglich, mit anderen Agentien (wie mit prolongierter mäßiger Wärme, verlängerter Austrocknung, Verschimmelung etc.) das Verschwinden oder die Modifikation der Körperchen zu beobachten. In diesem Falle war

es somit wichtig, die Beziehung zwischen morphologischer Modifikation und Virulenzveränderung festzustellen.

Interessant mußte dies um so mehr sein, wenn man an mögliche analoge Tatsachen dachte. So ist die von Foà (6) bezüglich der Cytoryctes der Vaccine angestellte Beobachtung bekannt. Diese Forscherin will beobachtet haben, daß die typischen Formen der Cytoryctes, sobald man die Vaccine mit verschiedenen physikalischen und chemischen Agentien behandelt, sich, bevor noch die Wirksamkeit der Vaccine modifiziert ist, stark modifizieren und alterieren. Hieraus konnte nun natürlich ein Zweifel an dem ätiologischen Zusammenhang der Cytoryctes mit der Vaccininfektion abgeleitet werden.

Konnte es nun also nicht auch bei den Negrischen Körperchen vorkommen, daß, sobald man das Nervensystem spontan oder experimentell wutkranker Tiere der Einwirkung verschiedener physikalischer und chemischer Agentien aussetzte, die in Frage stehenden Körperchen vor dem Erlöschen der Infektionsfähigkeit verschwanden oder sich stark modifizierten? Jedenfalls mußte es auf diesem Wege möglich sein, eine Beziehung feststellen zu können zwischen der Form der Körper, ihren Modifikationen und der verschiedenen Verhaltungsweise der Virulenz. Das Resultat konnte verschiedenartig sein und ebenso die Konsequenz, das Interesse und die Tragweite dieser Nachforschungen.

Entweder beobachtete man also, daß die Negrischen Körperchen sich vor dem Verschwinden des Infektionsvermögens tief veränderten oder ganz verschwanden, und dann konnte aus diesem einzigen Grunde schon die diesen Körpern als Erzeugern der Wut beigelegte ätiologische Bedeutung sich nicht aufrecht erhalten. Oder aber die Negrischen Körperchen alterierten sich erst, wenn die Virulenz erloschen war; in diesem Falle war es doch gestattet, wengleich der Versuch allein nicht für die parasitäre Natur der Körperchen zeugen konnte, einen der so häufig gegen ihre ätiologische Bedeutung erhobenen Einwurf auszuschließen.

Deshalb also habe ich mir vorgenommen, zu ermitteln, wie sich die Negrischen Körperchen in Beziehung auf die Virulenz des wutkranken Zentralnervensystems verändern, wenn letzteres der Wärme, der Austrocknung, der Verwesung, der Glycerineinwirkung, dem Wasserdampfe und der Auswässerung in Wasser und physiologischer Lösung ausgesetzt ist.

Mit Vorliebe habe ich mich zu den Prüfungen der Hunde bedient und nur sehr selten der Kaninchen, da in ihnen die Negrischen Körperchen sehr klein und so wenig typisch sind, daß sie die Beobachtung eventueller morphologischer Veränderungen nur schwer gestatten.

Die Versuchstiere kamen zum Teil aus dem städtischen Gesundheitsamte (Antiwutinstitut), das der Freundlichkeit des Herrn Prof. Abba zufolge reiches und kostbares Material lieferte. Bevor ich das Gehirn eines der Straßenwut verdächtigen Hundes untersuchte, wurde die histologische Prüfung des Ammonshorns nach der von Volpino beschriebenen äußerst rapiden Methode (7) vorgenommen. Nur im Falle positiven Resultats wurde das Zentralnervensystem des Tieres verwandt.

Die experimentell mit Passagevirus injizierten Tiere dienten erst nach vollständigem Ausbruch der Wutsymptome für unsere Zwecke, bei den analytischen Daten wird alles spezifiziert aufgeführt werden, was hiervon interessieren kann.

Den zu den Versuchen bestimmten Tieren wurde stets das Ammonshorn beider Hemisphären und oft auch das Kleinhirn entnommen. Von dem Ammonshorn und dem Kleinhirn bereitete ich dann gleichmäßige und gleichförmige kubische Stückchen (von einer Seitenlänge von ungefähr 5—7 mm). Ein Stück wurde ohne weiteres ohne Behandlung fixiert und diente zur histologischen Kontroll- und Vergleichsprüfung. Andere Stücke wurden den verschiedenen physikalischen Agentien ausgesetzt, von denen nach der Behandlung eines fixiert wurde, während man das andere zerknietete und 2 Kaninchen subdural inokulierte.

Die biologische Wutdiagnose des zum Versuche verwendeten Tieres wurde (wohlverstanden nur bezüglich des Straßenvirus) vom städtischen Antiwutinstitut ausgeführt.

Auf diese Weise hatten wir folgende Daten: Die histologische Kontroll- und Vergleichsprüfung des Ammonshorns und des (normalen) Kleinhirns und entsprechende biologische Probe, sowie die histologische Untersuchung der den verschiedenen physikalischen Behandlungsweisen ausgesetzten Stücke und schließlich die biologische Untersuchung der Virulenz dieser behandelten Stücke.

Die inokulierten Kaninchen wurden stets wenigstens 75 Tage in Beobachtung gehalten. Ließen bei ihnen die Symptome, die Inkubation und die Todesart Zweifel aufkommen über die Natur der Krankheit, so wurde zwecks Sicherung der Diagnose zu weiteren subduralen Innesten der Cerebrulpula in andere Kaninchen geschritten.

Bezüglich der histologischen Untersuchung genügt es, daran zu erinnern, daß die Fixation der Stücke in Sublimat vorgezogen wurde. Von Färbemethoden kamen die Mannsche und das Eisenhämatoxylin zur Anwendung, welches letzteres zum Studium der Struktur in Frage stehender Körperchen wirklich gute Resultate gibt, ohne zu umständlich zu sein. Von weiteren die histologische Untersuchung betreffenden Einzelheiten, die in unserem Institute weiter verfolgt werden, hat Volpino in seiner oben angeführten Schrift ausführlicher gesprochen.

Die verschiedenen Stücke des Ammonshorns oder des Kleinhirns wurden also folgender Behandlung unterworfen:

Zuerst der Austrocknung: Die in genannter Weise geschnittenen Stückchen ließ ich einige Zeit lang im Exsiccator mit Chlorcalcium. War die nötige Zeit abgelaufen, so wurden sie herausgenommen und einige Stunden lang in physiologische Lösung gebracht, damit sich die Elemente etwas blähen konnten, wonach sie zur biologischen resp. zur histologischen Prüfung kamen.

Die Behandlung mit der Hitze wurde stets mit bis zur gewünschten Temperatur erhitzter physiologischer Lösung ausgeführt. War dann diese Temperatur erreicht, so brachte man die Nervensystemstücke in die Lösung und ließ sie darin die gewünschte Zeit, daraufhin ließ ich sie einige Stunden lang in derselben kalten Lösung liegen, bevor ich die Stücke fixierte, eben um nicht Elemente zu rasch zu fixieren, die sich noch auf dem Wege der Disgregation befanden.

Für die Resistenzproben gegen Glycerin (eine einzige nur wurde ausgeführt) verwandte ich steriles Neutralglycerin und verfuhr im übrigen in der schon beschriebenen Weise. Analog wurde gegen die Verwesungsverfahren (Aussetzung an die Luft, in ziemlich feucht gehaltenem Raume). Die Maceration fand in Wasser und physiologischer Lösung statt.

Ein Stück habe ich auch der Einwirkung direkter Sonnenstrahlen ausgesetzt, doch bietet dieser Versuch nur wenig Interesse, da man mit

zu großen Stücken operieren mußte, die es der Strahlenwirkung nur schwer ermöglichten, bis in die Zentralteile des Gewebes zu dringen. Nur der Genauigkeit wegen zitiere ich auch diesen Fall, der aber keine Bedeutung für sich in Anspruch nehmen kann.

Allen diesen Versuchen kann nun ein allgemeiner Einwurf gemacht werden. Wie sehr ich nämlich auch bemüht war, kleine Gewebestückchen zu verwenden (wie bereits erwähnt, hatten die uniformen Würfelstücke der Nervensubstanz eine Seitenlänge von 5—7 mm) und wie sehr auch die Stückchen untereinander uniform sein mochten, so kann doch dagegen eingeworfen werden, daß die verschiedenen Punkte derselben auf verschiedene Weise der Einwirkung der physikalischen Agentien unterlagen, und daß sonach die Ergebnisse der biologischen Probe und des morphologischen Versuches von Punkt zu Punkt des Gewebes variieren konnten.

Dieser Einwurf wäre nun zum Teil auch berechtigt. Um die Ursachen des Irrtums also möglichst zu beschränken, hielt ich die Stückchen eben vor allem in sehr kleinen Dimensionen; außerdem habe ich bei der histologischen Prüfung die Schnitte immer in allen Teilen des Gewebes wiederholt, so daß ich also genaue Daten über die Form der Körperchen an den verschiedenen Stellen besaß. Im übrigen kann man diese Irrtumsursache bei verschiedenen Behandlungsmethoden, besonders bei der Maceration und bei der Hitzeeinwirkung (bei der stets ein flüssiges Konstituens zur Anwendung kam), angesichts der Leichtigkeit, mit der das Nervengewebe die Imbibition und Permeabilität gestattet, für sehr reduziert halten.

Einige Versuche gaben infolge der Natur des Experiments bezüglich der morphologischen Prüfung etwas zweifelhafte Resultate. Es trat dies besonders bei den der Austrocknung ausgesetzten Stückchen ein. Die Elemente ziehen sich so zurück, und die auch vielmals und mit allen Mitteln wiederholte Färbung gibt so unsichere Resultate, daß es nicht leicht ist, die Struktur der intracellulären Körperchen genau zu beobachten. In diesen Fällen habe ich mich damit begnügen müssen, die Umrisse und die allgemeine Form der Negrischen Körperchen zu entnehmen, was mit dem Eisenhämatoxylin leicht ist, wenn man dafür Sorge trägt, die Dekoloration der Schnitte möglichst weit zu treiben.

Bei einigen Exemplaren waren die künstlich bewirkten Läsionen so tief, daß die Prüfung absolut unzuverlässig ausfiel. Ich unterlasse es daher, diese Daten anzuführen, die doch nur wenig Interesse bieten würden.

Zur exakten, den Befunden zukommenden Interpretation gebe ich nachstehend aus dem Protokolle die wichtigsten Versuchsdaten wieder (s. Tab. p. 46—49).

Ich verzichte darauf, 7 weitere Versuche vorzubringen, deren Resultate entweder infolge schlechter Ueberwachung der Tiere während meiner Abwesenheit vom Laboratorium oder infolge der Unsicherheit der die behandelten Gewebstücke betreffenden Diagnose nicht klar sind.

Die in den Tabellen vorgeführten analytischen Tatsachen überheben mich jeder Erklärung. In einigen Fällen (Hund 2, 10) schienen die Negrischen Körperchen nach der Behandlung auch etwas angeschwollen; wegen der bedeutenden Diameterverschiedenheit zwischen den beiden Intracellularkörpern war es mir jedoch nicht möglich, zu konstatieren, ob es wirklich eine Anschwellung war. Aus dem Gesamtbilde der der

Hitze ausgesetzten Schnitte erhält man jedoch den Eindruck vergrößerter Körper. Beim Hunde No. 7 war die morphologische Untersuchung schwierig; ohne Zweifel fanden sich hier und da in den Präparaten schlecht gefärbte Körperchen, die mich, trotz ihrer bedeutenden Alteration, an die intracellulären Körperchen erinnerten.

Ordnungsnummer	Natur des Tieres und seine Herkunft	Datum	Resultat der morphologischen und biologischen Probe des Gehirns ohne Behandlung	Behandlungsmethode	Resultat der biologischen Probe beim Kaninchen nach der Behandlung. Subdurales Innest des		Resultat der morphologischen Prüfung und Bemerkungen
					Kleinhirns	Ammonshorns	
1	Kaninchen, Inokulation mit Straßenvirus	6. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Im Ammonshorn sehr deutliche u. gut färbbare kleine Negrische Körperchen	48 - stündiger Verbleib in 30° iger physiologischer Lösung	Wut	Wut	Ammonshorn: Die Körperchen sind noch gut sichtbar und färben sich noch ziemlich gut. Ihrer Kleinheit wegen gelingt es nicht, ihre Struktur zu studieren
2	Wutkranker Hund aus Luserna	7. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Ammonshorn u. Kleinhirn: Vorhandensein zieml. großer u. einzelner klar rosettenförmiger Negrischer Körperchen	Verwesung. Werden 11 Tage an der Luft in etwas feuchtem Raume gehalten	Wut	Wut	Ammonshorn: Die Körperchen sind ziemlich sichtbar und färbbar; ihre Form scheint nicht verändert. Einige sehen etwas vergrößert aus. Die Nervenzellen sind schon stark alteriert, in sehr vielen sieht man das Kernkörperchen nicht mehr; der Kern und das Protoplasma sind außerdem in vielen derselben homogenisiert Kleinhirn: Normale oder wenigstens scheinbar normale Körperchen. Zellen schon verletzt
3	Kaninchen, fixes Virus	7. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Ammonshorn: Sehr kleine, sehr schwer zu beobachtende Körperchen	Maceration auf 20° in 0,75-proz. NaCl für 7 Tage. Beginnende Verwesung.	—	Wut	Ammonshorn: Stark verändert. Elemente. In einzelnen Zellen finden sich noch Negrische Körperchen. Ihrer Kleinheit wegen ist es unmöglich, die eventuellen Modifikationen zu studieren
4	Hund unbekannter Herkunft (städt. Gesundheitsamt)	8. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Ammonshorn: Gut sichtbare, zieml. große Körperchen	Maceration während 48 Stunden in destilliertem Wasser	—	Wut	Ammonshorn: Die Elemente sind merklich verändert. An den Negrischen Körperchen sind keine Modifikationen sichtbar

Ordnungsnummer	Natur des Tieres und seine Herkunft	Datum	Resultat der morphologischen und biologischen Probe des Gehirns ohne Behandlung	Behandlungsmethode	Resultat der biologischen Probe beim Kaninchen nach der Behandlung. Subdurales Innest des		Resultat der morphologischen Prüfung und Bemerkungen
					Kleinhirns	Ammons-horns	
5	Hund aus Susa	8. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Ammons-horn: Es werden schöne, runde, rosettenartige Formen beobachtet. Kleinhirn: Spärlich in d. Purkinjischen Zellen	Sie werden 8 Tage lang auf CaCl ₂ in den Exsiccator gesetzt. Die Stücke sind sehr klein. Bei Ausnahme sind sie sehr trocken, sie werden dann vor Fixation einige Stunden in physiol. Lösung gehalten	Ergibt keine Wut	Wut, stirbt nach 25 Tagen	Ammons-horn: Die Elemente sind verändert und fast unerkennlich. Mit dem Eisenhämatoxylin sind noch fast allgemein ovale, zusammengeschrumpfte Negrische Körperchen sichtbar. Man erkennt ihre Struktur mit den runden, peripherischen, weniger gefärbten Körperchen Kleinhirn: Sehr starke Verletzungen der Elemente. Es gelingt nicht mehr, die Negrischen Körperchen genau zu unterscheiden
6	Hund aus Garesio	19. Mai	Wutkrank bei der biologischen Probe. Ammons-horn: Zahlr. runde oder typisch ovale Negrische Körperchen sichtbar	Verbleibt 68 Tage lang in Glycerin. And. Stücke 20 Tage im Exsiccator; fern vom Lichte	—	keine Wut (Glycerin) — keine Wut (Exsiccator)	Ausgetrocknetes Ammons-horn: Trotz starker Verletzung und Zusammenschrumpfung der Elemente gelingt es, doch noch einige Negrische Körperchen wahrzunehmen, die mit dem Eisenhämatoxylin ziemlich unterscheidbar sind Glyceriniertes Ammons-horn: Die Körperchen sind noch ziemlich gut sichtbar
7	Hund aus Andonno	25. Mai	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Deutlich sichtbare Körperchen	Auf 2' in 80° C physiol. Lösung	—	keine Wut	Ammons-horn: Die Elemente sind mäßig verletzt, wenigstens in den Zentral-gegenden des Stückes. Man sieht wenige unbestimmte, schlecht färbbare Körperchen, sozusagen Schatten der Körperchen
8	Hund, Eigentümer Carisio	29. Mai	Wutkrank bei biologischer Probe. Ammons-horn: Zahlreiche, sehr deutl., eher große Körperchen	Sie bleiben für 15' auf 50° (physiol. auf 50° erhitzte Lös.), dann 3 Stunden lang in physiol. Lös. auf 18°	—	Wut	Ammons-horn: Die Körperchen sind gut sichtbar, inalteriert und leicht färbbar. Auch die Elemente des Gewebes erscheinen nicht verändert
9	Hund, Eigentümer Giacchetti	30. Mai	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Deutlich sichtbare Körperchen	Sie bleiben 20' auf 60° im Trockenofen. Die Stücke sind sehr klein	—	keine Wut	Ammons-horn: Stark alterierte Elemente. Fast nicht diagnostizierbare Körperchen; hier und da gelingt es, ein solches durchaus schlecht differenzierbares zu beobachten

Ordnungsnummer	Natur des Tieres und seine Herkunft	Datum	Resultat der morphologischen und biologischen Probe des Gehirns ohne Behandlung	Behandlungsmethode	Resultat der biologischen Probe beim Kaninchen nach der Behandlung. Subdurales Innest des		Resultat der morphologischen Prüfung und Bemerkungen
					Kleinhirns	Ammons-horns	
10	Hund. Subdurale Passagevirus-inokulation. Bei den ersten Wut-symptomen getötet	30. Mai	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Große, vielfach deutlich rosettenförm. Körperchen. Kleinhirn: Deutl. sichtbar in den Purkinjeschen Zellen	Sie bleiben 20' lang auf 50° in physiolog. Lös., dann 3 Stunden in 20°-iger Lösung	keine Wut	Wut	Ammons-horn: Die Körperchen sind unversehrt, zuweilen scheinen sie leicht aufgebläht. Unbeschädigte durch Hitze fixierte Elemente Kleinhirn: Leichte Vakuolisation des Protoplasmas der Purkinjeschen Zellen. Deutlich sichtbare, inalterierte Körperchen
11	Kaninchen, Passagevirus	10. Juni	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Kleine, runde, in den Verlängerungen gut sichtbare Körperchen	25' in 50°-iger physiolog. Lösung	—	keine Wut	Ammons-horn: Die Körperchen sind noch ziemlich gut unterscheidbar
12	Hund aus Garessio	12. Juni	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Etwas kleine, aber gut sichtbare Körperchen	5 Tage im Exsiccator Andere 11 Tage im Exsiccator	—	5 Tage: Wut 11 Tage: keine Wut	Ammons-horn: In dem 5 Tage lang ausgetrockneten Stück sind die Elemente alteriert, zusammengeschrumpft. Man erblickt verkleinerte Körperchen, deren Struktur nicht studierbar ist In dem 11 Tage lang ausgetrockneten Stück sind die Körperchen immer noch stark zusammengeschrumpft sichtbar
13	Hund aus Fontanello Strona	18. Juni	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammons-horn: Ziemlich große, typisch rosettenförm. Körperchen	Ein Teil wird 10' lang auf 60° erhitzt Ein anderer 20' auf 50°	—	Bei 60° keine Wut Bei 50° keine Wut	Bei 60° Ammons-horn: Negrische Körperchen gut sichtbar, aber weniger gut koloriert und vielleicht etwas größer Bei 50° erscheinen sie fast unverändert
14	Hund. Künstl. Inokulation unter die Dura mit Passagevirus	25. Juni	Wutkrank bei biologischer Probe. Ammons-horn: Große, sehr gut sichtbare Körperchen	Bleibt 45' auf 50° in physiolog. Lös.	—	keine Wut	Ammons-horn: Die Elemente sind stark zerstört; kaum sieht man noch Formen, die an die Negrischen Körperchen erinnern

Ordnungsnummer	Natur des Tieres und seine Herkunft	Datum	Resultat der morphologischen und biologischen Probe des Gehirns ohne Behandlung	Behandlungsmethode	Resultat der biologischen Probe beim Kaninchen nach der Behandlung. Subdurales Innest des		Resultat der morphologischen Prüfung und Bemerkungen
					Kleinhirns	Ammonshorns	
15	Hund wie oben	27. Juni	Wutkrank nach der biologischen Probe. Ammonshorn: Negrische Körperchen werden angetroffen in ihrer großen typischen Form	Bleiben hier 15 Tage auf 50° der Verwesung ausgesetzt Andere werden 30' lang auf 45° erhitzt	—	Verwesung: keine Wut Erhitzung: keine Wut	Ammonshorn: Die verfaulten Stücke sind in totalem Zerfall, die Zellelemente fast ganz aufgelöst. Trotzdem aber bemerkt man, wenn auch mit Mühe, Körperchen, wahrscheinlich die intracellulären Negrin Die erhitzten Stücke weisen die Negrischen Körperchen intakt auf
16	Kaninchen, Passagevirus	2. Juli	Wutkrank laut biologischer Probe. Ammonshorn: Negrische Körperchen finden sich vor	12-tägige Verwesung	—	keine Wut	Ammonshorn: Vollständig aufgelöste Elemente; hier und da Reste von Zellen. Diagnostizierung von intracellulären Körperchen nunmehr unmöglich, da dieselben infolge ihrer außergewöhnlichen Kleinheit kein bestimmtes Urteil mehr gestatten
17	Hund. Experimentelle Inokulation mit Passagevirus	4. Juli	Wutkrank nach der biologischen Probe. Ammonshorn: Typische Körperchen	5-tägige Maceration in 32 ^o igem Wasser Aussetzung klein. Stücke ans direkte Sonnenlicht bei 15'	—	Maceration: Wut Sonnenlicht: Wut	Ammonshorn: Das macerierete Stück weist noch fast normale Körperchen auf In dem der Sonne ausgesetzten Stück sind die Körperchen deutlich sichtbar; die Elemente sind nur in Sektionen der Oberfläche zusammengeschrumpft

Studiert man die Tabellen, so findet man bald heraus, daß einige meiner die Resistenz des Wutvirus betreffenden Ergebnisse stark von denen anderer Forscher abweichen. So findet man bezüglich der Resistenz des Virus gegen Hitze in den Lehrbüchern und Spezialwerken ziemlich verschiedene und miteinander nicht übereinstimmende Angaben. Galtier z. B. sagt, daß das Wutvirus bei 45—47° in 10' bestimmt und in 5' zuweilen getötet ist. Celli (9) hat dagegen das emulsierte und 24 Stunden lang auf 45° gehaltene Virus zuweilen noch aktiv gefunden. Roux (10) versichert, daß das Virus auf 60° in wenigen Momenten seine Virulenz verliert. Helman (11) hat beobachtet, daß es auf 65° ganze 15', auf 40° 24 Stunden und auf 25° 3 Tage resistent.

Dasselbe kann bezüglich der Verwesung gesagt werden. Wenngleich nun fast alle Autoren, die diese Frage studiert haben (Hertwig, Pasteur, Mergel, Galtier, Russo-Travali und Brancalone, Ratz etc.), behaupten, daß das Virus der Verwesung gegenüber ziemlich resistent ist, so sind doch die diesbezüglichen Daten in den verschiedenen Fällen sehr verschieden.

Es ist nun leicht verständlich, daß alle diese Versuche mit Kriterium

erklärt werden müssen, denn die Daten wechseln nicht nur je nach dem Material, sondern es hängt das Resultat auch von der Quantität des gebrauchten Materials, von der Art und Weise der Untersuchung etc. ab. So versteht man also, wie diese Resultate unter sich verschieden sein müssen.

Was hier interessiert, ist der Vergleich zwischen den Modifikationen der Virulenz und den Veränderungen der intracellulären Negrischen Körperchen. Ernstlich kann man nicht absolut behaupten, daß die intracellulären Körperchen bei den verschiedenen Behandlungsweisen nicht die geringste Alteration oder Modifikation erleiden, wenn unter der Einwirkung eines identischen Verfahrens die Virulenz nicht verschwunden ist. So kann durch die Einwirkung der Hitze und noch mehr durch die des Austrocknens die Virulenz sich erhalten, während die Körperchen eine Modifikation erlitten haben.

Doch ist diese immer nur leicht und derart (den Fall angenommen, daß die Körperchen lebende Wesen wären), daß ihre ungehinderte und unversehrte Vitalität trotz der erfolgten leichten Alteration sehr leicht begriffen werden könnte.

Ueberdies behalten diese Körperchen ihre Form bei und zeigen auch dann noch ihre typische — oder nur wenig veränderte — Struktur, wenn sie Behandlungsweisen unterliegen, die die Virulenz des Virus zweifellos töten.

Daraus läßt sich also der Schluß ableiten, daß diese Körperchen sich vor dem Verschwinden der Virulenz nicht bedeutend verändern. Ein Einwurf dieser Art gegen die eventuelle parasitäre Natur der Negrischen Körperchen scheint also, wenigstens bis zur Beibringung einer besseren Gegenprobe, unhaltbar zu sein.

Hieraus den umgekehrten Beweis ableiten zu wollen, ist noch nicht zugänglich. In gewisser Hinsicht erlaubt es sogar die so hohe Resistenz dieser Körper und die Tatsache, daß sie auch bei energischer Behandlungsweise bedeutend besser resistieren, als das umliegende Gewebe, daran zu denken, ob sie wirklich protozoäre Parasiten sein können oder ob sie nicht etwa vielleicht (den Fall ausgenommen, daß es sich um eine gewöhnliche Degeneration handelt) etwas wie eine Produktion, mit wirklichen spezifischen Kennzeichen, des determinierten Parasiten auf Kosten der Elemente darstellen (wenn die Idee und der Ausdruck nicht zu einfach wäre, würde ich sagen, etwas wie eine resistente Hülle oder eine Wohnung der eventuellen Parasiten). Sicherlich ist es nicht leicht, Formen zu finden, die sich in der Gruppe solcher Lebewesen analog verhalten. Wie schon Di-Vestea sehr gut gesagt hat, löst man mit alledem die Frage nach ihrer Natur immer noch nicht, und leider bleibt man auch heute noch im Reiche der Hypothese und des Wahrscheinlichen.

Ich füge schließlich noch hinzu, daß bei den 24 von mir geprüften Tieren (Hunde und Kaninchen), die laut biologischer Prüfung alle wutkrank waren, der Befund der intracellulären Körperchen konstant war. In einigen Fällen schien es mir, als ob ihre Verteilung im Ammonshorn wenig gleichförmig, ich möchte fast sagen, herdartig war.

Im Verlaufe meiner Untersuchungen ergab sich nur einmal der Fall, daß es unmöglich war, im Ammonshorn eines operierten Hundes die Negrischen Körperchen vorzufinden, wengleich der Hund bei der

biologischen Probe zweifellos wutkrank war (ein Fall, dem mit Rücksicht auf den Zweck der Arbeit nicht Rechnung getragen wurde). Es handelte sich um einen subdural mit Passagevirus inokulierten und nach den ersten Wutsymptomen getöteten Hund. Im Ammonshorn konnten wir keine Negrischen Körperchen vorfinden. Leider waren die anderen Stücke nicht aufbewahrt worden, weswegen leicht eingeworfen werden könnte, daß die Körperchen im Kleinhirn oder in der Gehirnrinde existieren könnten. Ich glaube, auch diesen Fall nicht übergehen zu dürfen, des Interesses wegen, das er für die praktische Anwendung der histologischen Methode zur Diagnose der Wut haben kann, und um darauf hinzuweisen, daß es sich jedenfalls nicht empfiehlt, die Prüfung des Kleinhirns und der Hirnrinde zu übergehen.

Bibliographie.

- 1) Di-Vestea, Dei più recenti studi circa la natura del virus rabido. (Giorn. Ital. d. scienze med. 1903. No. 6/7.)
- 2) Remlinger et Riffat-Bey, Le virus rab. traverse la bougie Berkefeld. (Compt. rend. soc. de biol. 1903. Juin.)
- 3) Schüder, Dtsche med. Wochenschr. 1903. Sept.
- 4) Guarnieri, La clinica moderna. 1903. Aprile.
- 5) Bertarelli u. Volpino, Ricerche ed osservazioni sperimentali sulla rabbia. (Riv. d'Igiene e sanità pubbl. 1903.)
- 6) Foà, A., Studio sui Cytoryctes vaccinae. (Rend. Acc. Lincei. Vol. XII. 1903.)
- 7) Volpino, Riv. d'Igiene e sanità pubbl. 1903.
- 8) Galtier, Leçons sur la rage. (Journ. d. méd. vétér. 1886.)
- 9) Celli, Alcune proprietà del virus rabido. (Boll. d. soc. di med. di Roma. T. V. 1888.)
- 10) Roux, Note sur un moyen de conserver etc. (Ann. Pasteur. 1887.)
- 11) Helman, Untersuchungen über Hundswut. (Arch. f. Biol. 1895)

Nachdruck verboten.

Die Darmcestoden der amerikanischen Beuteltiere.

Von F. Zschokke, Basel.

Mit 1 Tafel.

Nachdem schon früher gezeigt wurde, daß die anoplocephalinen Tänien der Gattungen *Bertia*, *Linstowia* und *Moniezia* in australischen und celebensischen Aplacentalen eine reiche Vertretung finden, war es von Interesse, die Cestodenfauna der südamerikanischen Beuteltiere kennen zu lernen. Es konnte sich fragen, ob die systematische Verwandtschaft der aplacentalen Säuger aus Australien, Celebes und Südamerika sich auch in einer Aehnlichkeit in der Zusammensetzung der Parasitenfauna ausspreche. Besonders durfte sich weiter die Frage erheben, ob v. Jherings Ansicht über die Bedeutung der Helminthologie für die zoogeographische Forschung durch die nähere Kenntnis der Darm-schmarotzer südamerikanischer Beutler eine Bestätigung erfahre.

Im zoologischen Institute der Universität Basel untersuchte Herr C. v. Janicki drei von den Museen in Berlin und Wien zur Verfügung gestellte Tänien aus Beutelratten; mich selbst setzt das freundliche und sehr verdankenswerte Zuvorkommen H. v. Jherings in Sao Paolo in den Stand, einen Cestoden aus *Peramys americana* zu beschreiben. Zwei der vier südamerikanischen Bandwürmer erwiesen sich als typische Arten

der nur aus australischen *Aplacentalia* bekannten Gattung *Linstowia* (*L. brasiliensis* Janicki aus *Didelphys tristriata* und *L. Jheringi* aus *Peramys americana*). Dazu gesellen sich indessen noch zwei Vertreter der Gattung *Oochoristica* Lühe, die sonst Reptilien, Edentaten und Affen bewohnt (*Oochoristica didelphidis* Rud. und *O. bivittata* Janicki, beide aus *Didelphys murina*).

Während den Darm australischer und celebensischer *Aplacentalia*, soweit heute unsere Kenntnisse reichen, ausschließlich Anoplocephalinen bevölkern, setzt sich dagegen die Cestodenfauna der Beutler Südamerikas aus zwei Elementen zusammen. Neben Anoplocephalinen (*Linstowia*) treten Dipylidiinen (*Oochoristica*) auf.

Die Bedeutung dieser Tatsache soll am Schlusse des Aufsatzes gewürdigt werden. Zunächst gebe ich die Beschreibung von *Linstowia Jheringi*, wie der Cestode aus *Peramys* heißen mag. Herr v. Janicki wird die 3 von ihm untersuchten Cestoden später eingehend besprechen. Die beiden Linstowien aus Südamerika, *L. Jheringi* und *L. brasiliensis*, stehen sich systematisch nahe, ohne indessen identisch zu sein.

Das einzige zur Verfügung stehende Exemplar von *Linstowia Jheringi* besitzt eine Länge von etwa 28 mm. Es trägt einen großen, 1 mm langen und 1,2 mm breiten, sehr kräftig entwickelten Skolex, der sich gegen die vorn abgestutzte Scheitelfläche zu etwas verbreitert. Am Umfang des Skolex liegen die 4 regelmäßig verteilten, äußerst starken Saugnäpfe. Sie öffnen sich schräg nach vorn und springen, durch gegen den Scheitel tiefer werdende Einschnitte voneinander getrennt, etwas über die Oberfläche des Kopfes vor (Fig. 1).

Im ganzen gestaltet sich die Strobila lanzettförmig; nach vorn zieht sie sich etwas schlanker aus als nach hinten. Ihre größte Breite erreicht die Kette, mit 4,5—5 mm, gegen die Mitte der Gesamtlänge. 2 mm hinter dem Skolex beträgt der Querdurchmesser der Strobila 1,8 mm. Ein Hals fehlt.

Alle Proglottiden, deren Zahl 160—200 betragen mag, bleiben sehr viel breiter als lang. Die ersten Glieder bilden außerordentlich kurze, kaum wahrnehmbare Querrunzeln. Später strecken sich die Proglottiden allmählich, ohne indessen eine nennenswerte Länge zu erreichen. Da der Hinterrand der Segmente über den folgenden Vorderrand etwas vorspringt, erhält die Strobila ein leicht gesägtes Aussehen.

Der Bau des Skolex wird durch die mächtige Entwicklung der Saugnäpfe stark beeinflusst. Die Haftorgane nehmen weitaus den größten Teil des Kopfes in Anspruch; sie senken sich tief in den Skolex ein, so daß die innere Begrenzung der einander benachbarten Saugnäpfe, besonders in der mittleren Kopfregion, nur durch einen sehr schmalen Parenchymstreifen voneinander getrennt wird oder sich sogar berührt. Nach vorn und noch mehr nach hinten, gegen den Scheitel und gegen die Strobila, tiefen sich die Saugnäpfe sackförmig ein; sie erscheinen auf Querschnitten jener Skolexteile allseitig geschlossen. Im mittleren Abschnitt stehen sie offen; dort geführte Querschnitte besitzen die Gestalt eines Malteserkreuzes, dessen einspringende Winkel und Seitenbegrenzung der Arme durch die Saugnäpfe gebildet werden (Fig. 2).

In der Strobila fällt die für die Gattung *Linstowia* typische Dehnung der Rindenschicht auf Kosten der Marksicht auf. Das Rindenparenchym beansprucht in den jüngsten Abschnitten der Kette $\frac{3}{4}$, später $\frac{2}{3}$, in reifenden Gliedern die Hälfte der dorsoventralen Gesamtdicke.

Eine reiche Entfaltung erfährt in der jungen Strobila die longi-

itudinale Parenchymmuskulatur. Sie besteht aus 70—85 ansehnlichen, in dorsoventraler Richtung stark ausgezogenen Bündeln, die sich zu einem geschlossenen Mantel so dicht aneinanderschieben, daß die Grenzen der einzelnen Muskeln oft schwer zu erkennen sind. In reiferen Teilen der Strobila werden die Bündel lockerer verteilt.

Innerhalb der Längsmuskulatur liegen kräftige Quermuskeln; auch die dorsoventral ziehenden Fasern und Bündelchen treten in großer Zahl auf.

An der Stelle, wo die Strobila in den Skolex übergeht, liegt je ein Paar gleichweiter Längsgefäße des Exkretionssystems rechts und links in den Seitenteilen des Wurmkörpers innerhalb der Nervenstämme. Die dorsalen Gefäße stellen sich schon in jungen Gliedern, und nach hinten fortschreitend immer deutlicher, außerhalb, marginal, von den Ventralstämmen auf; gleichzeitig verlieren sie allmählich an Weite, während die Dicke der Wandung etwas zunimmt. Alle 4 Kanäle laufen in zahlreichen, flachen, weit nach innen greifenden Schlingen durch die Strobila. Am Hinterrande jeder Proglottis verbinden sich die 2 Ventralgefäße durch wenig umfangreiche, oft schwer nachzuweisende, einfache Querverbindungen.

Beim Uebergang von der Strobila in den Skolex wenden sich die 4 Längsgefäße in wiederholten, dicht zusammengedrängten Schlingen allmählich nach innen. Etwas bevor sie die Mitte der Skolexlänge erreichen, stellen sich die 2 Exkretionsstämme ein und derselben Seite zwischen den inneren Teilen der beiden Saugnäpfe auf, welche der entsprechenden rechten oder linken Körperhälfte angehören. Alle 4 Gefäße besitzen im Skolex ungefähr dasselbe Lumen und dieselbe Wanddicke; sie sehen oft unscheinbar, zusammengepreßt aus.

Weiter vorn, etwa in der Mitte der Skolexlänge, wo die Saugnäpfe nach außen offen stehen, verbinden sich die 4 Wassergefäßstämme wahrscheinlich durch einen vielfach geschlungenen Gefäßring, von dem Schleifen peripherisch in den zwischen je 2 Saugnäpfen gelegenen Raum ausgezogen werden können. Die 4 Hauptstämme setzen sich noch weiter nach vorn fort, indem jeder derselben sich an den am weitesten einspringenden Teil eines Saugnapfes innen anschmiegt. Im Scheitel des Skolex endlich treten die beiden Gefäße derselben Seite durch eine einfache, in plumpe Windungen gelegte, dorsoventrale Schlinge in gegenseitige Beziehung.

Die rechts und links nach außen von den Längsgefäßen durch die Strobila ziehenden Markstränge des Nervensystems zeichnen sich in der ganzen Länge durch sehr beträchtlichen Umfang und gleichzeitig durch lockere Fügung aus. Sie treten in normaler Lage und bedeutender Stärke in den Skolex ein, in dem sie marginal-peripherisch zwischen je 2 Saugnäpfen verlaufen. Weiter vorn gegen den Scheitel scheinen die beiden Längsnerven durch eine Querkommissur verbunden zu sein.

Schon in sehr jungen Segmenten legen sich gleichzeitig die männlichen und weiblichen Geschlechtsorgane an. Der männliche Apparat entwickelt sich etwas rascher als der weibliche, ohne daß indessen ausgesprochen protandrische Verhältnisse zu stande kämen.

Die Geschlechtspori, die im Grunde einer mäßig tiefen Genitalkloake liegen, alternieren in ihrem Vorkommen unregelmäßig an den beiden Rändern der Strobila. Immerhin gehört die beträchtliche Mehrzahl der Oeffnungen ein und demselben Seitenrande an. Gleichzeitig öffnet sich die Kloake sehr nahe dem vorderen Gliedrande, beinahe an der Grenze

zweier Proglottiden. Männlicher Porus, Cirrusbeutel und Vas deferens verschieben sich etwas mehr gegen den Vorderrand des Gliedes als die Vagina; zudem stellen sie sich in der Regel mehr ventral auf. Doch sind Fälle nicht selten, in denen sich der Cirrusbeutel, wie in Fig. 4, dorsal an die Scheide anschmiegt. Die Geschlechtsgänge ziehen ventral an den Längsgefäßen und Marksträngen vorbei; sehr selten verlagern sie sich zwischen die longitudinalen Exkretionsstämme. Gewöhnlich läßt sich somit folgende ventrodorsale Aufeinanderfolge der betreffenden Organe erkennen: Cirrusbeutel, Vagina, Gefäßstämme, Nerv.

Von den für das Genus *Linstowia* gültigen Verhältnissen weicht der Cirrusbeutel von *L. Jheringi* durch seinen bescheidenen Umfang ab. Er zieht als kleines, schwächtiges, gestreckt birnförmiges Gebilde vom Grunde der Genitalkloake bis gegen den Längsnerven der entsprechenden Seite; nur selten erreicht er indessen den Außenrand des Nerven. Die ziemlich kräftige Muskulatur des Beutels setzt sich aus äußeren Längsfasern und inneren Zirkulärfasern zusammen. Letztere erreichen ihre stärkste Entwicklung im mittleren Abschnitt der gesamten Taschenlänge. Der im Beutel gelegene Teil des Vas deferens gliedert sich in einen inneren, geschlungenen Abschnitt und in einen gestreckten, eigentlichen Cirrusteil. Der protrahierte Cirrus ist wenigstens teilweise mit Höckerchen oder Spitzchen bedeckt.

Unmittelbar vor dem Eintritt in den Cirrusbeutel füllt sich das Vas deferens stark mit Sperma, ohne indessen eine eigentliche, wohlumschriebene Vesicula seminalis zu bilden. Innerhalb des Nervenstranges, im Gebiete der Längsgefäße, wickelt sich der Spermidukt in einen Knäuel zahlreicher, starker, prall mit Samen gefüllter Windungen auf. Der ganze aus ineinandergeschobenen Schlingen bestehende Abschnitt des Vas deferens wird von einer Menge unregelmäßiger Zellen mit granulösem Protoplasma, großem, rundem Kern und sich stark färbendem Kernkörper von allen Seiten umschlossen. So bildet sich ein scharf umschriebener, umfangreicher und kompakter Komplex, dem vielleicht die Bedeutung einer Prostata zukommt.

Aus diesem Zell- oder Drüsenkomplex austretend, wendet sich das Vas deferens in schwachen Wellenlinien und ohne seinen mäßigen Umfang zu verändern, dorsalwärts gegen die Mitte des Hodenfeldes, wo es sich in zahlreiche, zarte Vasa efferentia auflöst. Auf dem ganzen Verlauf wird die deutlich begrenzte Wand des Samenleiters von zahlreichen Kernen begleitet (Fig. 4).

Die im ganzen dorsal gelegenen Hoden nehmen einen ununterbrochenen Medianstreifen der Strobila ein, dessen Breite der halben Proglottidenbreite nahezu gleichkommt. Seitlich erstrecken sie sich nicht bis zu den Exkretionsstämmen. Im Gegensatz zum Komplex der weiblichen Drüsen, verschiebt sich das Hodenfeld nicht gegen den Rand mit den Genitalöffnungen; seine Breite ist am Vorderrande des Gliedes etwas beträchtlicher als am Hinterrande. Die umfangreichen, wohlbegrenzten, rundlichen oder in der Querrichtung oval ausgezogenen Hodenbläschen ordnen sich dorsoventral 1—3-schichtig übereinander; von vorn nach hinten folgen sich 2, selten 3 Reihen; transversal liegen 10—15 Testikel nebeneinander.

In eitragenden Proglottiden tritt eine starke Rückbildung des männlichen Apparates ein. Immerhin lassen sich der Cirrusbeutel, Teile des Vas deferens und die durch die Eier stark eingeeingten Hoden noch er-

kennen. Wenn die Zahl der reifen, beschalteten Onchosphären steigt, verschwinden auch die letzten Trümmer der Testikel.

Für die Anordnung und gegenseitige Lage der weiblichen Organe ist die Tatsache von Bedeutung, daß sich der Komplex von Ovarium, Dotterstock und Schalendrüsen aus der Medianlinie des Gliedes etwas gegen den Rand mit den Geschlechtsöffnungen hin verschiebt. Da die Lage der Genitalpori an den beiden Rändern unregelmäßig wechselt, liegen auch nicht alle Komplexe weiblicher Drüsen in den sich folgenden Segmenten genau hintereinander. Dasselbe gilt für die verwandte Art *Linstowia brasiliensis* Janicki.

In jungen Gliedern zieht die Vagina in gestrecktem Verlauf von der Geschlechtskloake nach dem Zentrum des weiblichen Drüsenhaufens. Sie läßt sich in ihrer Gesamtheit auf einem einzigen Querschnitt übersehen. Das sich dorsal richtende Vas deferens wird von der Scheide gekreuzt. Nach außen gegen die Kloake erweitert sich die Vagina etwas, gleichzeitig nimmt ihre Wandung an Dicke bedeutend zu. Der dickwandige Abschnitt der Scheide, der $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ der ganzen Länge des Vaginalrohres umfassen kann, trägt einen dichten inneren Besatz von Häkchen oder Börstchen und scheint außen mit Muskelfasern belegt zu sein.

Auch in reiferen Gliedern behält die Scheide einen gestreckten Verlauf. Sie erfährt indessen insofern eine wichtige Veränderung, als ihr innerer Teil, der zuerst ein wenig beträchtliches und gleichmäßiges Lumen besaß, allmählich zu einem mächtigen, lang-spindelförmigen Receptaculum seminis anschwillt. Dieser Samenbehälter umfaßt zuerst $\frac{1}{5}$, dann, vom Porus genitalis an gerechnet, das 3. Viertel der ganzen Vaginallänge. Er dehnt sich zuletzt über $\frac{1}{8}$ und endlich über die Hälfte der Scheide aus und schiebt sich mit seinem inneren Ende zwischen die Ovarialschläuche der entsprechenden Seite ein, von denen er den größeren Teil gegen den Hinterrand des Gliedes drängt (Fig. 3, 4).

Im Gebiete des Keimstockes verjüngt sich das Receptaculum ziemlich unvermittelt zu einem dünnwandigen, engen, auf eine kurze Strecke ventralwärts gerichteten Befruchtungsgang. Mit diesem vereinigt sich der von der Bauchfläche und von hinten herkommende Keimgang. Der so entstandene Kanal wendet sich sofort gegen die Rückenfläche und durchbohrt in fast rein ventrodorsaler Richtung den Komplex der Schalendrüsen. Unmittelbar vor diesem Drüsenhaufen oder schon im Gebiete desselben öffnet sich in den Befruchtungsgang der ebenfalls von der Ventralfläche und von hinten herziehende Dottergang.

Das Ovarium oder der Keimstock stellt sich, von der Fläche betrachtet, als ein sehr flacher, gemäß der Gliedgestalt in die Breite gezogener Fächer dar, der nach jedem Rande 3—5 nicht sehr lange, unverzweigte, höchstens plump ausgebuchtete Aeste aussendet. Einige kurze Ovarialschläuche erstrecken sich auch dorsalwärts in das Hodenfeld. Beide Keimstockflügel vereinigen sich durch eine ventral gelegene Brücke, aus welcher der dorsalwärts und nach vorn sich richtende Keimgang entspringt. Die Breite des Ovariums beträgt in jüngeren Stadien $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{9}$, in reiferem Zustand $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{7}$ der Proglottidenbreite.

Am nächsten dem hinteren Gliedrande, ebenfalls ventral, und zwar aus der Mittellinie des Komplexes der weiblichen Drüsen nach innen verrückt, im Gebiete des den Genitalpori abgewendeten Ovarialflügels liegt der umfangreiche, plump-sackförmige, mit nur seichten Ausbuchtungen versehene Dotterstock. Seine Breite mag beinahe die Hälfte

derjenigen des Keimstockes betragen. Aus der Dorsalfäche des Dotterstockes geht der direkt nach den Schalendrüssen gerichtete Dottergang hervor. Die Schalendrüssen treten zu einem umfangreichen Haufen zusammen, der seinen Platz am hinteren Gliedrande und dorsal vom Dotterstocke findet. Der Komplex bietet in seiner Struktur keine besonderen Verhältnisse und auch die einzelnen Drüsen besitzen die typische, kurz birnförmige Gestalt.

Dorsal geht aus der Schalendrüsenansammlung der Ovidukt hervor, der, gegen den Vorderrand des Gliedes ansteigend, sich gleichzeitig entschieden ventralwärts wendet. So erreicht er in mehreren starken Windungen und unter allmählicher Zunahme seines Lumens die Bauchfläche des Gliedes. Auf diesem Wege legt sich der Ovidukt vor die Verbindungsbrücke der Keimstockflügel, den Dotterstock und den Befruchtungsgang oder das Receptaculum seminis. Er nähert sich also dem Vorderrande des Segmentes mehr als die genannten Teile (Fig. 4).

Ganz ventral geht der Eileiter in den quergestellten, nur sehr kurze Zeit auftretenden Uterus über. Die undeutlichen Wandungen des Fruchthälters scheinen sich bald aufzulösen oder doch unvollständig zu werden, so daß sich die reifenden Eier im Parenchym verteilen. Sie liegen zahlreich, doch ohne dicht gedrängt zu sein, in verschiedener Entwicklung in den Maschen des Markparenchyms. Nahe den Seitenrändern der Strobila treten einzelne Onchosphären auch in die Rindenschicht über. In der Region der weiblichen Drüsen beschränken sich die dickbeschalteten, reifen Onchosphären auf die äußersten Seitenteile der Markschicht; mehr zentral liegen nur jüngere Entwicklungsstadien der Embryonen. Dagegen mischen sich in den übrigen Teilen der Glieder Eier (Onchosphären) in verschiedenem Zustand der Reife. Ähnliche Verhältnisse herrschen bei *Linstowia brasiliensis*.

Die beschalteten Onchosphären sind kugelig oder kurz-oval, nur wenig länger als breit. Sie werden umschlossen von einer dicken, formbeständigen, äußeren Schale, auf die zwei innere, dünne, zarte, oft zusammengefaltete oder zerknitterte Hüllen folgen. Die beiden lassen sich oft nur schwer unterscheiden, so daß Zweifel an der Dreischaligkeit entstehen können. Ein „birnförmiger Apparat“ fehlt; der Embryo ist hexacanth. Wie bei *L. brasiliensis*, zeichnen sich auch bei *L. Jheringi* die reifen Eier durch starke Färbbarkeit aus.

Aus der Beschreibung des Bandwurmes von *Peramys americana* ergibt sich seine Zugehörigkeit zur Gattung *Linstowia*, deren Vertreter *L. echidnae* und *L. semoni* in australischen, aplacentalen Säugetieren (*Echidna hystrix* und *Perameles obesula*) leben. Die meisten und wichtigsten Gattungsmerkmale von *Linstowia* treffen unverändert auch für den geschilderten südamerikanischen Cestoden zu. Dies betrifft die Gestalt der Segmente, die alternierende Lage der Genitalpori, die starke Entwicklung der Rindenschicht auf Kosten der Markschicht, die Tatsache, daß der Uterus ein dünnwandiges Rohr ist, dessen Hülle bald verschwindet, so daß die Eier später einzeln im Parenchym ausgestreut werden, das Fehlen einer gestielten Prostata, die Verteilung der Hoden und die Abwesenheit eines „birnförmigen Apparates“ an den Eiern. Besondere Beachtung verdient der Umstand, daß bei den betreffenden Parasiten australischer wie südamerikanischer *Aplacentalia* der dorsale Exkretionsstamm sich randwärts vom ventralen aufstellt und daß die

beiden Genitalgänge ventral von den Längsgefäßen und vom Nerven vorbeiziehen. Von hoher Bedeutung ist ferner die Uebereinstimmung in der Lage des weiblichen Drüsenkomplexes, der sich von der Medianlinie des Gliedes nicht oder nur unbedeutend gegen den Genitalrand verschiebt und vor allem die gegenseitige Lagebeziehung und Verbindung der einzelnen Drüsen. In allen Fällen stellt sich der Dotterstock genau ventral von den Schalendrüsen auf.

Der vollständigen generellen Deckung von *Linstowia echulnae* und *L. Semoni* mit dem Wurm aus *Peramys* steht einzig der verschiedene Umfang des Cirrusbeutels im Wege. Dieses Organ ist bei den australischen Parasiten stark entwickelt, walzenförmig ausgezogen; es zieht nach innen an den Exkretionsstämmen vorbei und kann die Medianlinie der Proglottide erreichen. Der Cestode aus *Peramys* dagegen besitzt einen schwachen, schmächtigen Cirrusbeutel, der kaum bis zum Längsnerven reicht.

Angesichts der vollständigen Uebereinstimmung in allen anderen Gattungsmerkmalen dürfte der einzige Unterschied in der Mächtigkeit des Cirrusbeutels nicht genügen, um den Schmarotzer von *Peramys* aus dem Genus *Linstowia* auszuschließen. Die Schaffung einer neuen Gattung für denselben, einzig gestützt auf die Länge und Stärke der Cirrustasche, würde sich nicht rechtfertigen. Der Wurm mag daher den Namen *Linstowia Theringi* n. sp. tragen.

Dem Genus *Linstowia* verleibte Fuhrmann in neuerer Zeit 2 Vogelcestoden, *Linstowia Linstowi* Parona aus *Numida ptilorhyncha* und *L. lata* Fuhrm. aus demselben Wirt, ein. Für den erstgenannten Bandwurm schuf Fuhrmann indessen später das neue Genus *Zschokkea*. Aber auch mit der Aufnahme von *L. lata* in die Gattung *Linstowia* kann ich mich nicht befreunden. Es ist allerdings zuzugeben, daß *L. lata* durch folgende Merkmale in den Rahmen der Genusdiagnose von *Linstowia* paßt: Die Kürze und Breite der Segmente, die starke Entwicklung der Rindenschicht, die ventrale Lage der Genitalgänge gegenüber den Längsstämmen des Exkretions- und Nervensystems, die Gegenwart eines dünnwandigen, früh verschwindenden Uterus, die Abwesenheit einer gestielten Prostata und eines „birnförmigen Apparates“ an der inneren Eischale. Dagegen weicht der von Fuhrmann beschriebene Cestode in einer ganzen Reihe wichtigster genereller Merkmale von *Linstowia* ab. Seine Genitalpori liegen alle einseitig an demselben Rande der Strobila, während ihre Lage bei *Linstowia* alterniert. Der Bandwurm aus *Numida* besitzt nur ventrale Exkretionsstämme von allerdings gewaltigem Umfang; die Dorsalgefäße, die sich bei allen Vertretern von *Linstowia* marginal von den Ventralstämmen aufstellen, fehlen. Während der Cirrusbeutel der Linstowien — mit Ausnahme von *L. Theringi* — nach innen an den Exkretionsstämmen vorbeizieht und sogar die Längsmittellinie der Proglottide erreichen kann, dehnt er sich bei *L. lata*, nach Fuhrmanns Zeichnung, nicht einmal bis zum Längsnerven aus. Seine Länge beträgt 0,45 mm, die Maximalbreite der Strobila 10 mm. Für *Linstowia* ist es typisch, daß der Komplex der weiblichen Drüsen sich nicht oder nur unbedeutend aus der longitudinalen Medianlinie des Gliedes verschiebt; anders bei *L. lata* Fuhrm., wo die Drüsen sich so sehr dem Genitalrande annähern, daß der Keimstock dicht neben das ventrale Wassergefäß der betreffenden Seite zu liegen kommt.

Besonders bedeutsam aber gestaltet sich die Differenz in der gegenseitigen Lage von Dotterstock, Ovarium und Schalendrüsen. Es gehört vor allem mit zum generellen Charakter von *Linstowia*, daß der Keimstock und der Dotterstock ventral liegen, der erstere dem vorderen, der letztere dem hinteren Gliedrande mehr angenähert, und daß die Schalendrüsen sich genau dorsal vom Dotterstock aufstellen. In den Segmenten von *L. lata* Fuhrm. aber ordnen sich die verschiedenen Drüsen sehr typisch in transversaler Richtung genau nebeneinander an. Vom Ventralgefäß des Genitalrandes ausgehend, stößt man zuerst auf das Ovarium, dann auf die Schalendrüsen und endlich auf den am weitesten nach innen geschobenen Dotterstock. Die Schalendrüsen liegen ventral zwischen Ovarium und Dotterdrüse. Aus dieser abweichenden Lage ergeben sich natürlich auch Verschiedenheiten im Zusammenhang und in der Art der Vereinigung der einzelnen weiblichen Drüsengänge bei *Linstowia* und beim Parasiten aus *Numida*.

Linstowia bildet ein durch eine Reihe von Merkmalen wohlumschriebenes Genus, in dessen Diagnose 4 gut charakterisierte Anoplocephalinen aplacentaler Säuger aus Australien und Südamerika passen. Es sind dies *L. echidnae* A. W. Thompson aus *Echidna hystrix*, *L. Semoni* Zsch. aus *Perameles obesula*, *L. Jheringi* Zsch. aus *Peramys americana* und *L. brasiliensis* Janicki aus *Didelphys tristriata* Janicki. Die ursprünglich für *Linstowia* gegebene Diagnose kann auf alle 4 Species angewendet werden, sofern nur der Passus „Cirrusbeutel immer stark entwickelt und walzenförmig ausgezogen. Er geht an den Exkretionsstämmen der betreffenden Seite vorbei und kann die Längsmittellinie des Segmentes erreichen“ gestrichen wird. Auch nach dieser Streichung bleibt das Genus *Linstowia* genügend umschrieben.

Sollte aber nach Fuhrmanns Vorschlag der anoplocephaline Cestode aus *Numida* in die Gattung *Linstowia* einbezogen werden, so würde die feste und natürliche Gengrenze gesprengt. Es müßten eine Reihe der wichtigsten generellen Merkmale dahinfallen. Von einer einigermaßen scharfen Umschreibung des jetzt gut definierten Genus wäre nicht mehr die Rede. Dies sollte verhindert werden. Daß *Linstowia* außerhalb aplacentaler Säuger parasitieren, darf als wahrscheinlich angenommen werden, ist aber vorläufig nicht festgestellt.

Linstowia lata Fuhrm. zeichnet sich durch eine Reihe von Eigentümlichkeiten in der Anatomie des Exkretionssystems und der Genitalorgane aus, die wohl hinreichen dürften, den Wurm zum Vertreter eines eigenen, *Linstowia* nahestehenden Genus zu machen. Von anderen Anoplocephalinen-Gattungen nähern sich dem genannten Vogelparasiten diejenigen, welche in jedem Glied nur einen Genitalapparat besitzen. Auszuschließen sind zum voraus die Formen mit doppelter Geschlechtsanlage, *Cittotaenia* und *Moniezia*, sowie die eigentümliche, von Fuhrmann definierte Gattung *Aporina*, deren Geschlechtsgänge, Vagina und Cirrus, nicht nach außen münden, sondern sich im Markparenchym, dorsal von den Längsstämmen des Wassergefäßsystems, vereinigen.

In Betracht kommen als nähere Verwandte des Bandwurmes aus *Numida* etwa die Genera *Anoplocephala*, *Andrya*, *Stilesia*, *Bertia*, *Zschokkea* und *Thysanosoma*, ohne daß der Cestode in eine der genannten Gattungen aufgenommen werden könnte. *Thysanosoma* entfernt sich von *Linstowia lata* Fuhrm., abgesehen von der Tatsache, daß die Proglottiden in den meisten Fällen doppelte Genitalapparate tragen, besonders durch den

typischen Bau des Uterus und durch die Lage der Geschlechtskanäle gegenüber den Exkretionsstämmen und dem Längsnerven. Das soeben genannte Merkmal trennt *L. lata* auch von *Bertia*, *Zschokkea*, *Anoplocephala* und *Stilesia*. Gegen eine Vereinigung mit *Stilesia* spricht außerdem stark die bei diesem Genus typisch hervortretende Isolierung der Hodenbläschen an den Gliedrändern. *Andrya* weicht von *L. lata* Fuhrm. durch den Besitz einer gestielten Prostata, eines netzförmigen Uterus und des birnförmigen Apparates ab. Bei *Anoplocephala* liegen alle Genitalpori an demselben Gliedrande, die weiblichen Drüsen stellen sich auf der Seite der Geschlechtsöffnungen auf, während sich die Hoden nach dem entgegengesetzten Rande verschieben. Der birnförmige Apparat der Eier ist gut entwickelt. Auch die Uterusmerkmale scheinen von denjenigen der *L. lata* abzuweichen.

Am meisten Anklänge zeigt *L. lata* noch an die Gattungen *Bertia* und *Zschokkea*, sie schließt sich an dieselben ebenso eng an, wie an das Genus *Linstowia*. Mit *Zschokkea* teilt sie die starke Entwicklung des Rindenparenchyms, die einseitige Lage der Genitalpori; in beiden Fällen verschwindet ferner die Uteruswand frühzeitig, so daß die Eier in das Parenchym übertreten. Dagegen besitzt *Zschokkea* dorsale oder äußere Exkretionskanäle; dieselben verbinden sich mit den inneren, ventralen durch ein feines Kapillarnetz. Zwischen den beiden dem Rand mit den Genitalpori angenäherten Längsgefäßen liegen die weiblichen Drüsen. Auf die verschiedene Lage der Genitalgänge gegenüber den Exkretionsstämmen und dem Längsnerv, die bei *Linstowia lata* und *Zschokkea* herrscht, wurde schon hingewiesen.

Eine Vereinigung von *L. lata* mit *Bertia* verhindert die alternierende Lage der Genitalpori, der Bau des Uterus, der Verlauf der Geschlechtskanäle und die Gegenwart dorsaler Längsgefäße bei der eben erwähnten Gattung.

So ergibt sich der Schluß, daß *Linstowia lata* Fuhrm. ohne Zwang keinem der bestehenden Anoplocephalinen genera angegliedert werden kann. Von *Linstowia* entfernt sich der Cestode ebenso stark, als einzelne Genera der Anoplocephalinen voneinander abweichen. Der besprochene Vogelcestode sollte zum Vertreter einer eigenen, durch Merkmale des Exkretions- und Genitalapparates umschriebenen Gattung erhoben werden. *Linstowia* aber behält ihre Stellung und umschließt durch ihre Diagnose 4 gut definierte Arten.

Der Satz, daß alle genügend beschriebenen Tänien aplacentaler Säugetiere Anoplocephalinen sind, gilt heute nur noch in einer gewissen geographischen Einschränkung. Er behält seine Richtigkeit für Australien und Celebes. In einem Wirt jener Region ist sogar in jüngster Zeit ein neuer, höchst eigentümlicher Cestode entdeckt worden, *Triplotaenia mirabilis* aus *Petrogale penicillata*, dessen anoplocephalinen Charakter Boas und Janicki erkannten.

In südamerikanischen Beutlern parasitiert dagegen neben dem Anoplocephalinen genus *Linstowia* die den Dipylidiinen zugehörige Gattung *Oochoristica*. Die Uebersichtsliste der Cestoden aplacentaler *Mammalia* stellt sich somit folgendermaßen zusammen:

Parasit	Wirt	Geographisches Vorkommen
I. Anoplocephalinae:		
1. <i>Triplotaenia mirabilis</i> Boas	<i>Petrogale penicillata</i>	Australien
2. <i>Moniezia festiva</i> Rud.	<i>Macropus giganteus</i>	"
3. <i>Bertia obesa</i> Zsch.	<i>Phascolarctus cinereus</i>	"
4. <i>B. edulis</i> Zsch.	<i>Phalanger ursinus</i>	Celebes
5. <i>B. sarasinorum</i> Zsch.	"	"
6. <i>Linstowia echidnae</i> A. W. Thompson	<i>Echidna hystrix</i>	Australien
7. <i>L. Semoni</i> Zsch.	<i>Perameles obesula</i>	"
8. <i>L. Jheringi</i> Zsch.	<i>Peromys americana</i>	Südamerika
9. <i>L. brasiliensis</i> Janicki	<i>Didelphys tristriata</i>	"
II. Dipylidiinae:		
10. <i>Oochoristica didelphidis</i> Rud.	<i>Didelphys murina</i>	Südamerika
11. <i>O. bivittata</i> Janicki	" "	"

Auffallend ist vor allem die Tatsache, daß die nur aus australischen Aplacentalen bekannte Gattung *Linstowia* in 2 durchaus typischen Arten in Beutlern Südamerikas zu Hause ist. Von 3 auf ihre Parasiten untersuchten Arten südamerikanischer Marsupialier beherbergten zwei Vertreter von *Linstowia*. Nur in einem Wirt kamen dazu noch 2 Arten von *Oochoristica*. So erscheint die Cestodenfauna der südamerikanischen niederen Säugetiere weniger einheitlich und geschlossen, als diejenige ihrer Verwandten aus Australien und Celebes. Die letztere besteht ausschließlich aus Anoplocephalinen.

Scheint *Linstowia* ein echter Schmarotzer aplacentaler Säuger zu sein, so verhält es sich anders mit *Oochoristica*. Das Genus wurde im Jahre 1898 von Lühe für eine Anzahl Cestoden aus verschiedenen europäischen, afrikanischen und amerikanischen Eidechsen aufgestellt. Lühe nennt spezieller die Formen *Oochoristica tuberculata* Rud. und *O. amphisbaenae* Rud.; doch bemerkt er, daß noch andere Eidechsen-tänien der Gattung einzuverleiben seien. Seither ist der bekannte Wirtskreis von *Oochoristica* bedeutend gewachsen und umfaßt heute neben Sauriern eine Anzahl recht verschiedener Säugetiergruppen. Cohn beschreibt unter dem Namen *C. surinamensis* einen Cestoden aus *Dasyopus gigas* von Surinam; Lühe betrachtet als zum Genus *Oochoristica* gehörend, nach schriftlicher Mitteilung an v. Janicki, *Taenia megastoma* Dies. aus brasilianischen Affen (*Callithrix personata* und *Cebus caraya*) und *T. tetragonocephala* Dies. aus *Myrmecophaga bivittata*. Zu derselben Auffassung über die systematische Stellung der Tänie des Ameisenfressers gelangte, nach gütiger Mitteilung, v. Janicki; er fand in *Myrmecophaga* außer der typischen *O. tetragonocephala* noch eine Varietät des Cestoden (var. *Wageneri*). Bereits gedacht wurde des Vorkommens zweier *Oochoristica*-Arten in *Didelphys murina*. Endlich beschrieben Marotel und Railliet unter dem Namen *O. incisa* einen Bandwurm aus dem Dachs (*Meles taxus*).

Für das Vorkommen der Gattung *Oochoristica* ergibt sich somit nach den bisher vorliegenden Daten ein eigentümliches Bild. Das Genus bewohnt recht verschiedene europäische, afrikanische und amerikanische Eidechsen; es kommt außerdem in südamerikanischen Affen, Edentaten und Marsupialiern vor und wurde in Frankreich im Dachs gefunden. Die Möglichkeit des Auftretens von *Oochoristica* in so verschiedenartigen Tieren erklärt sich übrigens leicht durch die Tatsache,

daß alle genannten Wirte entweder ausschließlich oder doch vorzugsweise auf Insektennahrung ausgehen. Gleiche Zwischenträger übermitteln also auch hier ähnliche Parasiten verschiedenen Wirten.

Schwieriger zu entscheiden ist die Frage nach der ursprünglichen Heimat von *Oochoristica*.

Die sehr weite geographische Verbreitung der Gattung in insektivoren Wirten der verschiedensten systematischen Stellung deutet für *Oochoristica* auf ein offenbar recht hohes Alter. Dabei legt das Vorkommen zahlreicher Arten in verschiedenen Eidechsen mehrerer Kontinente vielleicht die Vermutung nahe, daß das betreffende Cestodengenus ursprünglich den Sauriern angehörte und erst später auf insektenfressende Säugetiere überging. Das allgemeine Vorkommen passender, ähnlicher Zwischenwirte leistete der geographischen Ausdehnung von *Oochoristica* Vorschub und verhalf dem Parasiten gleichzeitig zu zahlreichen und verschiedenartigen, insektivoren Wirten. Für die Verhältnisse Südamerikas ist das Faktum bezeichnend, daß Vertreter von *Oochoristica* dort bis heute nur in alten, autochthonen Säugetieren — *Cebus*, *Callithrix*, *Myrmecophaga*, *Dasybus* und *Didelphys* — gefunden wurden, während solche in heterochthonen Wirten, die zur Pliocänzeit aus Nordamerika nach Südamerika einwanderten, fehlen. Auch dies spricht für ein beträchtliches Alter der Gattung und für ihr schon tertiäres Vorkommen in Südamerika. Die autochthonen südamerikanischen Säuger teilen somit die Gattung *Oochoristica* mit Wirten anderer Regionen der Erde; sie besitzen indessen von derselben besondere Arten. Dies stimmt mit der Auffassung v. Jherings überein, daß sich in Südamerika, wenigstens in der Tertiärzeit, neue Typen von Helminthen nicht gebildet haben, daß dagegen die lange tertiäre Isolierung südamerikanischer Mammalia zu spezifischer Differenzierung ihrer Eingeweidewürmer führte.

Noch viel altertümlicher aber mutet es an, wenn in südamerikanischen Beutelratten die sonst nur aus australischen Marsupialiern bekannte Anoplocephalidengattung *Linstovia* auftritt. Es könnte dieses Faktum die Annahme eines sehr alten genetischen Zusammenhanges der Beuteltiere Australiens und Südamerikas stützen. Offenbar bedarf es noch weiterer Nachforschungen über die Parasitenfauna der Marsupialier, um, gestützt auf helminthologische Befunde, so weitgehende zoogeographische und stammesgeschichtliche Schlüsse zu ziehen. Immerhin liegt in den vorausgehenden Erörterungen ein Fingerzeig für die Richtigkeit des Satzes v. Jherings, daß die Helminthologie zu einem wertvollen Hilfsmittel für die analytische Methode der Zoogeographie und für die Paläontologie werden könne.

Eine weitere merkwürdige Konvergenz der Helminthenfauna von Südamerika und Australien könnte ebenfalls als Stütze der Ansicht von sehr altem Zusammenhang der Faunen beider Kontinente betrachtet werden. Hamanns Acanthocephalengenus *Gigantorhynchus* verteilt sich in seinen 4 Arten nur auf autochthone Bewohner von Südamerika und Australien. Es schmarotzt in *Myrmecophaga* (*Gigantorhynchus echinodiscus*), *Gypagus* und *Catharthes* (*G. spira* Dies.), *Cariuma* (*G. taenioides* Dies.), sowie, nach v. Linstows Befund, im australischen Beutler *Perameles obesula* (*G. Semoni* v. Linst.).

Literaturverzeichnis.

- 1) Boas, J. E. V., *Triplotaenia mirabilis*. (Zool. Jahrb. Abt. Syst.-Geogr., Biol. d. Tiere. Bd. XVII. 1902.)
- 2) Cohn, L., *Helminthologische Mitteilungen*. (Arch. f. Naturg. Jahrg. LXIX. Bd. I. 1903.)
- 3) Fuhrmann, O., *Bemerkungen über einige neue Vogelcestoden*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.)
- 4) —, *Die Anoplocephaliden der Vögel*. (Ibid. Bd. XXXII. 1902.)
- 5) v. Janicki, C., *Weitere Mitteilungen über Triplotaenia*. (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904.)
- 6) v. Jhering, H., *Die Helminthen als Hilfsmittel der zoogeographischen Forschung*. (Zool. Anz. Bd. XXVI. 1902.)
- 7) v. Linstow, O., *Nemathelminthen. Von Herrn Richard Semon in Australien gesammelt*. Semon, Zoologische Forschungsreisen in Australien und dem Malayischen Archipel. Jena 1898.
- 8) Lühe, M., *Mitteilungen über einige wenig bekannte bzw. neue südamerikanische Tänien des k. k. naturhistorischen Hofmuseums in Wien*. (Arch. f. Naturg. Jahrg. XLI. 1895.)
- 9) —, *Oochoristica nov. gen. Taeniadarum*. (Zool. Anz. Bd. XXI. 1898.)
- 10) Marotel, G., *Sur un Téniaidé du Blaireau*. (Compt. rend. soc. biol. Janv. 1899.)
- 11) Railliet, A., *Sur les Cestodes du Blaireau*. (Compt. rend. soc. biol. Jan. 1899.)
- 12) Shipley, A. E., *On a collection of parasites from the Soudan*. (Arch. d. Parasit. T. VI. 1902.)
- 13) Zschokke, F., *Die Cestoden der Marsupialia und Monotremata*. (Semon, Zoologische Forschungsreisen in Australien und dem Malayischen Archipel. Jena 1898.)
- 14) —, *Neue Studien an Cestoden aplacentaler Säugetiere*. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXV. 1899.)

Erklärung der Figuren von *Linstowia Jheringi* n. sp.

Fig. 1. Skolex und vorderer Teil der Strobila.

Fig. 2. Querschnitt durch den vorderen Teil des Skolex. *S.* Saugnapf. *L.* Längsgefäße. *N.* Nervenstamm.

Fig. 3. Weiblicher Apparat und Hoden, Flächenbild. *D.* Dotterstock, *H.* Hoden. *L. d.* Dorsales Längsgefäß. *L. v.* Ventrales Längsgefäß. *Ov.* Ovarium (Keimstock). *R.* Receptaculum seminis. *V.* Vagina.

Fig. 4. Männlicher und weiblicher Apparat, Querschnitt. Bezeichnungen wie in Fig. 3; außerdem: *C.* Cirrusbeutel. *K.* Kloake. *O.* Ovidukt. *P.* Prostata. *S.* Schalendrüsen. *V. d.* Vas deferens.

Nachdruck verboten.

Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Florenz (Direktor A. Lustig).

Experimentelle Untersuchungen.

Von Dr. N. Tiberti, Assistent.

Die zahlreichen Versuche, welche in den letzten 20 Jahren angestellt wurden, um die Tiere gegen den Milzbrand zu immunisieren, sind allgemein bekannt. Ich halte es nicht für meine Aufgabe, an dieser Stelle die Geschichte der Impfung gegen den Milzbrand vorzutragen, um so mehr, da der Leser sie in vortrefflicher Darstellung finden kann in einer Arbeit von Vaerst, welche im vergangenen Jahre im Centralblatt für Bakteriologie¹⁾ erschienen ist.

1) Vaerst, Immunisierung gegen Milzbrand mit Pyrocyanase und Kombinationen derselben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1902. No. 7.)

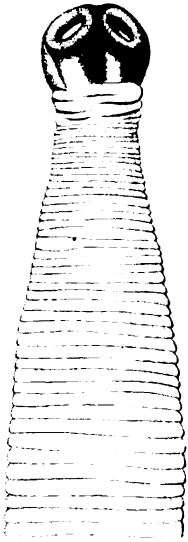


Fig. 1.

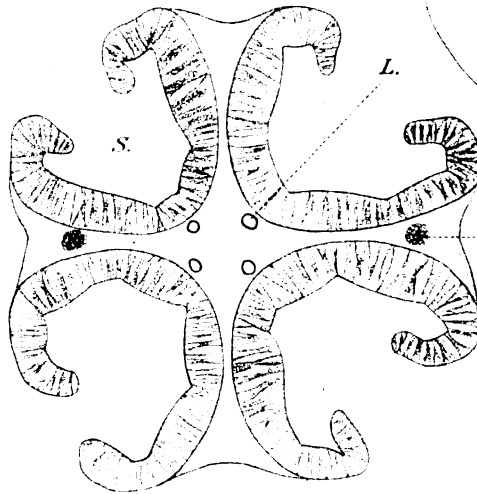
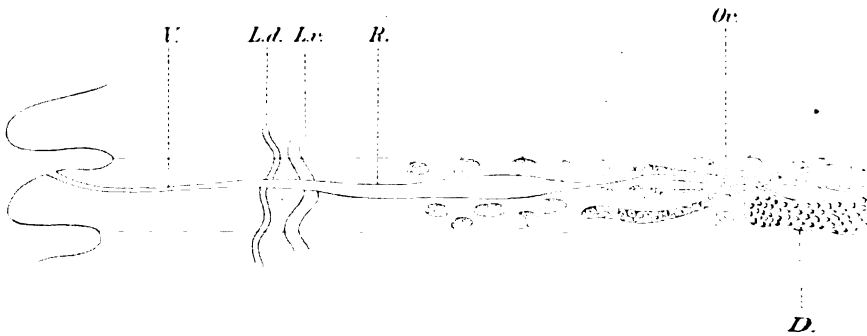
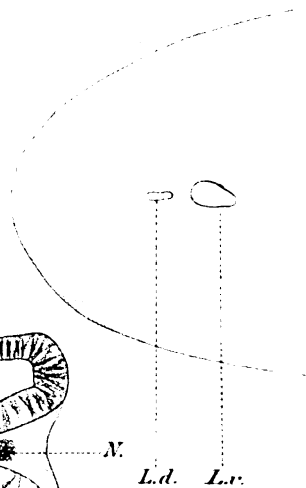


Fig. 2.



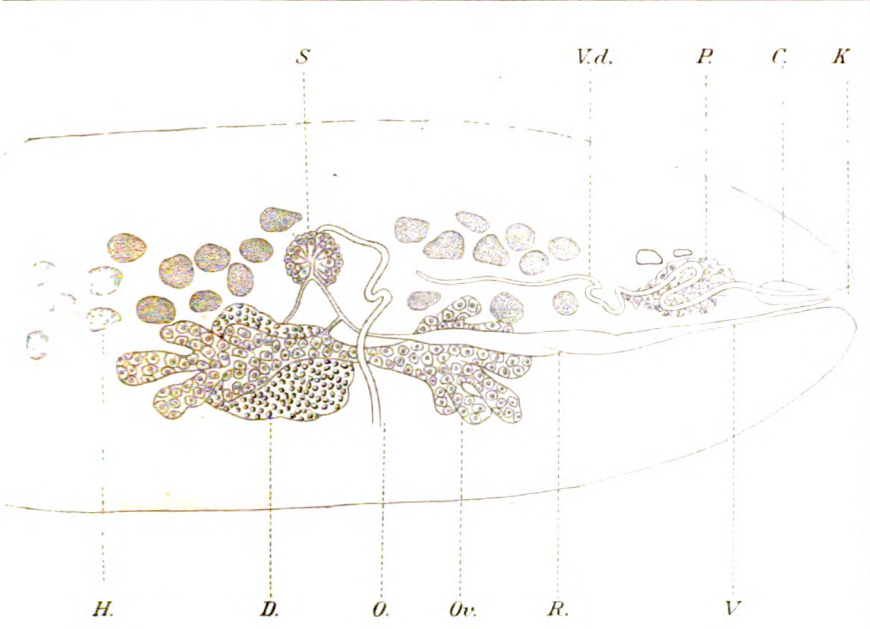
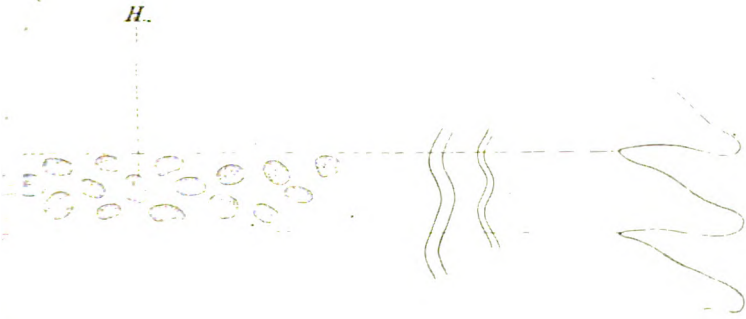


Fig. 4.

Fig. 3.

H.



Nur so viel will ich sagen, daß ich, da ich mich von der Bedeutung des Gegenstandes angezogen fühlte, die chemische Impfung gegen den Milzbrand an den Versuchstieren erproben wollte, in der Ueberzeugung, daß in Anbetracht der jedermann bekannten Schwierigkeit, diesen Tieren eine aktive Immunität gegen diese Infektion zu verleihen, die Ergebnisse meiner Untersuchungen, falls sie positiv ausfielen, vielleicht einige Anwendung in der Praxis finden könnten.

Zu diesem Zwecke wollte ich mich auf Anraten des Herrn Prof. Lustig davon überzeugen, ob es möglich wäre, aus dem Milzbrandbacillus das Nukleoprotein zu extrahieren und seine immunisierende Kraft zu studieren. Um den ersten Teil dieser Aufgabe zu lösen, bediente ich mich der Methode Lustig-Galeotti zur Extraktion des Nukleoproteids des Pestbacillus mit einigen Modifikationen, welche durch den größeren Widerstand, den der Milzbrandbacillus hinsichtlich des als Lösungsmittel des Mikroorganismus verwendeten Aetzkalis und namentlich durch die sporenbildende Natur desselben bedingt waren.

Nachdem ich das fragliche Nukleoprotein nach Ueberwindung einiger Schwierigkeiten erhalten hatte, begann ich sofort meine Untersuchungen an Kaninchen und Meerschweinchen; aber die konstant bei den letzteren erlangten negativen Resultate veranlaßten mich zu der Annahme, daß diese Tiere, in anbetracht ihrer außerordentlichen Empfindlichkeit dem Milzbrand gegenüber, sich nicht für meine Untersuchungen eigneten; deshalb beschränkte ich, ohne weiter auf erfolglosen Versuchen zu beharren, die folgenden Experimente nur auf Kaninchen.

Die Resultate einer ersten Reihe von Untersuchungen wurden in den ersten Tagen dieses Jahres bekannt gegeben in der Zeitschrift *Il Policlinico*¹⁾. Damals erklärte ich die zur Präparation des Nukleoproteids des Milzbrandes von mir verwendete Methode; diese Methode wiederhole ich hier kurz und füge dem, was ich vorher geschrieben habe, einige genauere Angaben hinzu, die mir durch die Experimente an die Hand gegeben wurden, welche ich nach Veröffentlichung meiner vorläufigen Mitteilung ausführte.

Der Milzbrandbacillus wird auf Agar in breiten Glaskästen kultiviert, die zuvor $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 80° sterilisiert worden sind. Die Kulturen läßt man im Thermostaten bei 37° 20–24 Stunden lang oder bei 20° 3–4 Tage lang verweilen. Im ersteren Falle keimen die Kulturen sehr schnell und bilden leicht Sporen; im zweiten Falle wachsen sie etwas mühsamer, aber die Sporenbildung geht schwerer vor sich. Gewöhnlich war ich darauf bedacht, ehe ich zur Präparierung des Nukleoproteids schritt, die Kulturen unter dem Mikroskop zu untersuchen, teils um mich von ihrer Reinheit zu überzeugen, teils um zu sehen, ob die Sporenbildung eingetreten sei, indem ich stets Kulturen zu verwenden suchte, die, wenn sie auch nicht völlig asporogen waren (was unter den oben erwähnten Temperaturbedingungen sich schwer erreichen läßt), so doch wenigstens eine beschränkte Anzahl von Sporen zeigten.

Auf jeden Fall hebt man, wenn der *Bacillus anthracis* sich auf der Oberfläche des Nährbodens in üppiger Vegetation entwickelt hat, die letztere mit einem sterilisierten Spatel ab und bringt sie in einen sterilisierten Rezipienten; man fügt eine 2–3-proz. Lösung von Aetzkali hinzu und rührt die Flüssigkeit mit dem Spatel um, bis man

1) Tiberti, Sul potere immunizzante del nucleoproteide estratto dal bacillo del carbonchio ematico. (*Il Policlinico*. 1903. Fasc. 12. p. 5.)

eine homogene Suspension des Mikroben erreicht hat. Was die Konzentration des Aetzkalis betrifft, so muß ich sagen, daß ich mich bei den verschiedenen in diesem Jahre ausgeführten Präparationen von Nukleoprotein davon habe überzeugen können, daß der Widerstand des Milzbrandbacillus gegen die auflösende Wirkung des Aetzkalis, je nach den verschiedenen Kulturen, veränderlich ist. Infolge der von mir vorher angestellten Experimente verfügte ich über Kulturen, die sich sehr gut durch eine 2-proz. Aetzkalilösung auflösen ließen, während die Kulturen, deren ich mich bei den diesjährigen Untersuchungen bediente, einen größeren Widerstand gegen die Lösungen dieser Substanz zeigten, so daß es nötig war, ihren Gehalt auf 3 Proz., ja sogar auf 4 Proz. zu steigern. Man kann jedoch im allgemeinen die Behauptung aufstellen, daß man mit einer 2—3-proz. Aetzkalilösung eine sehr beträchtliche Desintegration der Bakterien erreicht, vorausgesetzt, daß die Berührung letzterer mit der Lösung 3—4 Tage fort dauert, wobei man die die Flüssigkeit enthaltenden Rezipienten bei einer Temperatur zwischen 20 und 25° erhält und oft mit einem sterilisierten Spatel umrührt.

Die Suspension der Bacillen in Aetzkalilösung hat eine schleimige Konsistenz und ein opalartiges Aussehen. Breitet man auf einem Deckglas einen Tropfen dieser Flüssigkeit aus und färbt mit Methylenblau oder Gentianaviolett, so bemerkt man neben seltenen bakterischen Formen, die noch ganz gut erhalten sind, andere stark vakuolisierte Formen, andere in Körnchen von wechselnder Größe verwandelte, andere, die angeschwollen sind und unregelmäßige Umrisse zeigen, noch andere endlich, die mehr oder weniger von Grund aus verändert sind.

Fügt man der die desintegrierten Bacillen enthaltenden Aetzkalilösung eine verdünnte Essigsäurelösung hinzu, so sieht man einen flockigen Niederschlag erscheinen, der sich ganz langsam von der Flüssigkeit trennt und sich auf dem Boden des Gefäßes ansammelt. Dieser Niederschlag, der die für die Nukleoproteide angegebenen Reaktionen darbietet, wird auf einem Filter aus sterilisiertem Löschpapier gesammelt und wiederholt mit destilliertem sterilen Wasser abgewaschen; dann nimmt man ihn mit einem Spatel auf und löst ihn in einer 2-proz. Lösung von Natriumkarbonat auf. Auf diese Weise erhält man eine opalartige Flüssigkeit, die das Nukleoprotein des Milzbrandbacillus in Lösung enthält.

Um die Menge aktiver Substanz zu dosieren, die in einer bestimmten Quantität dieser letzten Lösung enthalten ist, nimmt man z. B. 10 ccm derselben und verdampft sie im Wasserbad; der Rückstand wird in einem Exsikkator mit H_2SO_4 getrocknet, auf der Präzisionswaage gewogen, in Asche verwandelt und wieder gewogen. Die Differenz zwischen dem ersten und zweiten Wiegen stellt die Menge des in 10 ccm der Lösung enthaltenen Nukleoproteids dar.

Bei der ersten Reihe meiner Experimente bediente ich mich stets eines durch Chamberlandsche Filter filtrierten Nukleoproteids. In der Folge, als ich sah, daß eine große Menge aktiver Substanz auf dem Filter zurückblieb, wollte ich den Versuch machen, nicht filtriertes Nukleoprotein zu injizieren; ich überzeugte mich aber sehr bald, daß es geraten sei, zur früheren Methode zurückzukehren, sowohl wegen der außerordentlichen Schwierigkeit, absolut asporogene Kulturen zu erhalten, als auch weil es, obwohl man alle Vorsichtsmaßregeln bei der Bereitung des Nukleoproteids anwendet, vorkommen kann, daß man eine Verschlechterung des letzteren von seiten der Bakterien der Stäubchen

der Atmosphäre erhält. Vermittelt der Filtration sind wir sicher, eine Flüssigkeit zu erhalten, die absolut frei von Keimen und Sporen ist.

Der Auseinandersetzung des von mir im Laufe dieses Jahres angestellten Untersuchungen halte ich es für angezeigt, eine kurze Andeutung bezüglich meiner vorbereitenden Experimente vorzuschicken.

Vergangenes Jahr impfte ich 12 Kaninchen. Zuerst verwendete ich kleine Dosen von Nukleoprotein (6 mg) und stieg allmählich bis zu höheren Dosen (22 mg jedes Mal). Infolge dieser Injektionen, welche gewöhnlich unter der Haut des Abdomens ausgeführt wurden, zeigten sich die Tiere einige Stunden lang niedergeschlagen, verloren den Appetit und zeigten eine zwischen 39,8 und 40,8° schwankende Erhöhung der Temperatur, womit gleichzeitig eine leichte Verminderung des Gewichtes verbunden war. Oertlich, an der Impfstelle, war zuweilen eine Anschwellung von teigiger Konsistenz vorhanden, welche sich sehr bald zerteilte. Niemals konnte ich die Bildung von Abscessen konstatieren.

Nach Verlauf von einigen Tagen war das Tier vollständig wieder hergestellt und die Temperatur kehrte zum Normalen zurück. Ich trug Sorge, daß ich nie eine folgende Injektion machte, wenn nicht vorher jede Fieberreaktion der vorhergehenden Injektion verschwunden war.

Hier folgt die Uebersichtstabelle der bei der 1. Reihe von Experimenten mit dem Nukleoprotein des Milzbrandbacillus erhaltenen Resultate:

Lfd. No. der geimpften Kaninchen	Tage, an welchen die Impfungen ausgeführt wurden u. Dosis aktiver Substanz (Nukleoprotein), die bei jeder Impfung verwendet wurde				Vollständige Dosis des verwendeten Nukleoproteids	Zeit der Infektion	Ausgang	Kontrollkaninchen
I.	4. Febr. 1902	8. Febr. 1902	24. Febr. 1902	—	0,036	10. März 1902	lebt noch	verendete nach 4 Tagen
II.	do.	do.	do.	—	do.	do.	do.	
III.	do.	do.	do.	—	do.	do.	do.	
IV.	do.	do.	do.	—	do.	10. Mai	do.	
V.	17. März 0,006 g	1. April 0,012 g	14. April 0,022 g	28. April 0,022 g	0,062	12. Juni	do.	verendete nach 3 Tagen verendete nach 4 Tagen
VI.	do.	do.	do.	—	do.	21. Juni	do.	
VII.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 4 Tagen	verendeten nach 3 Tagen
VIII.	do.	do.	do.	28. April 0,022 g	do.	do.	† nach 8 Tagen	
IX.	7. April 0,008 g	14. April 0,022 g	28. April 0,022 g	—	0,052	do.	lebt noch	
X.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 5 Tagen	verendeten nach 3 Tagen
XI.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 8 Tagen	
XII.	do.	do.	do.	—	do.	do.	lebt noch	

Wie man aus dieser Tabelle von 12 Kaninchen ersieht, die von mir mit zwischen 0,036 und 0,052—0,062 schwankenden Dosen von Nukleoprotein geimpft und allmählich mit sehr virulenten Kulturen des Milzbrandes in verschiedenem Zeitabstand von der letzten Impfung infiziert worden waren, überlebten 8, und 4 gingen an Milzbrandseptikämie zu Grunde. Die mit den nämlichen Dosen derselben Kulturen geimpften Kontrollkaninchen erlagen regelmäßig. Bei den geimpften Kaninchen,

bei welchen der tödliche Ausgang infolge Infektion mit den Milzbrandkulturen erfolgte, trat eine gewisse Verzögerung des Todes gegenüber den bezüglichen Kontrolltieren insofern ein, als 2 von ihnen 8 Tage nach der Infektion verendeten, während die Kontrolltiere nach 3 Tagen zu Grunde gingen.

Zweite Reihe von Experimenten.

Im Verlaufe dieses Schuljahres nahm ich meine Untersuchungen über die Immunisierung der Kaninchen gegen den Milzbrand wieder auf in der doppelten Absicht, die früheren Experimente kontrollieren zu können und namentlich zu sehen, wie lange die den Tieren vermittelt der Behandlung mit Nukleoprotein verleihe Immunität andauere. Zu diesem Zwecke impfte ich weitere 12 Kaninchen, indem ich dieses Mal größere Quantitäten aktiver Substanz verwendete als zuvor.

Ich lasse den Bericht über meine Experimente hier folgen:

Kaninchen No. 1.

18. Okt. 1902. Gewicht 1,320 kg. Temp. 38°.
 1. Injektion mit 0,012 g Nukleoprotein.
 Während der folgenden 7 Tage schwankt die Temperatur zwischen 39,5 und 40,3°. Leichte Abnahme des Gewichtes, das sehr bald zum ursprünglichen zurückkehrt.
 15. Nov. Gewicht 1,400 kg.
 Nach Injektion mit 0,024 g Nukleoprotein gewöhnlich Temperatursteigerung in den folgenden Tagen.
 12. Jan. 1903. Gewicht 1,500 kg.
 3. Injektion von 0,020 g aktiver Substanz. Sehr leichte Temperatursteigerung. Das Kaninchen ist in gutem Zustande und nimmt an Gewicht zu.
 15. März. Gewicht 1,850 kg.
 4. Injektion von 0,038 g Nukleoprotein.
 1. Juli. Gewicht 2,000 kg.
 Wird infiziert mit $\frac{1}{2}$ ccm virulenter Bouillonkultur von Milzbrandbacillus, die 24 Stunden lang bei 37° gehalten wurde.
 Zeigt sich während der 4 folgenden Tage etwas niedergeschlagen. Frißt wenig. Es zeigt sich eine leichte Abnahme des Gewichtes. Nach 4 Tagen wird das Kaninchen wieder munter und überlebt. Das mit derselben Dosis der nämlichen Kultur infizierte Kontrolltier verendet am 4. Tage an Milzbrandseptikämie.

Kaninchen No. 2.

- Gewicht 1,460 Temp. 38,4°.
 18. Okt. 1902. 1. Injektion von 0,012 g Nukleoprotein.
 18. Okt. abends Temp. 39,5°.
 Die 5 folgenden Tage hindurch Temp. 39,8—40,2°. Abnahme des Gewichtes.
 15. Nov. Gewicht 1,670 kg.
 2. Injektion von 0,024 g Nukleoprotein.
 15. Nov. Temp. 39,6°. Größere Steigerung während der folgenden Tage.
 12. Jan. 1903. Gewicht 1,700 kg. Normale Temperatur.
 3. Injektion von 0,020 g Nukleoprotein.
 Die Temperatur übersteigt in den folgenden 6 Tagen nicht 39,5°, dann kehrt sie zur normalen zurück.
 15. März. Gewicht 2,100 kg. Temp. 38,1°.
 4. Injektion von 0,038 g Nukleoprotein.
 Reagiert nicht durch Fieber. Ist in ausgezeichnetem Zustande. Nimmt während der folgenden Monate an Gewicht zu.
 1. Juli. Gewicht 2,500 kg. Temp. 38,4°.
 Infiziert durch subkutane Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm virulenter Bouillonkultur von Milzbrand, die 24 Stunden lang bei 37° gehalten wurde.
 Ueberlebt. Das Kontrolltier verendet.

Kaninchen No. 3.

- Gewicht 1,800 kg. Temp. 38,5°.
 18. Okt. 1902. 1. Injektion von 0,012 g Nukleoprotein.
 Fieberreaktion wie in den vorausgehenden Fällen.
 15. Nov. Injektion von 0,024 g Nukleoprotein.

Fieberreaktion, schwankend zwischen 39,7 und 40,3° während der folgenden Tage. An der Inokulationsstelle erscheint eine Verhärtung, die sich in wenigen Tagen zerteilt.

Gewicht 1,850 kg.

12. Jan. 1903. Normale Temperatur.

3. Injektion von 0,020 g Nukleoproteid.

Fieberreaktion wie oben.

15. März. Gewicht 2,050 kg.

4. Injektion von 0,038 g Nukleoproteid.

Fortdauernde Fieberreaktion während der folgenden Tage.

1. Juli. Mit Milzbrand infiziert. Verendet nach 6 Tagen.

Das Kontrolltier verendet am 4. Tage.

Kaninchen No. 4.

Gewicht 1,250 kg. Temp. 38,1°.

Wird an denselben Tagen und mit denselben Dosen von Nukleoproteid geimpft. Erhält sich in gutem Zustande. Wird am 1. Juli mit virulenter Bouillonkultur von Milzbrand infiziert. Bekundet während der ersten Tage Zeichen von Krankheit, ernährt sich dann wieder und überlebt.

Kaninchen No. 5.

Gewicht 1,800 kg. Temp. 38,6°.

Geimpft wie die vorigen Kaninchen. Datum der letzten Impfung: 15. März (0,038 g aktiver Substanz). Infiziert am 1. Juli. Verendet am 8. Tage nach der Infektion. Das Kontrolltier verendet nach 3 Tagen.

Kaninchen No. 6.

Geimpft unter denselben Verhältnissen wie die früheren. Infiziert am 1. Juli 1903 Ueberlebt. Das bezügliche Kontrolltier verendet.

Kaninchen No. 7.

Gewicht 1,750 kg. Temp. 38,6°.

18. Okt. 1902. 1. Injektion von 0,012 g Nukleoproteid.

Schwache Fieberreaktion während der folgenden Tage.

15. Nov. 2. Injektion von 0,024 g Nukleoproteid.

Temp. schwankt an den folgenden Tagen zwischen 39,8 und 40,1°.

12. Jan. 1903. Normale Temperatur (38,2°). Gewicht 1,900 kg.

3. Injektion von 0,020 g Nukleoproteid.

Reagiert durch Fieber.

15. März. 4. Injektion von 0,057 aktiver Substanz.

Fortwährende Reaktion durch Fieber. Die allgemeinen Bedingungen sind gut.

8. Mai. 5. Injektion von 0,040 g Nukleoproteid.

1. Juli. Infiziert mit $\frac{1}{4}$ ccm Bouillonkultur von *Bacillus anthracis*. Zeigt keine deutlichen Merkmale von Krankheit und überlebt.

Kaninchen No. 8.

Gewicht 1,800 kg.

Geimpft an denselben Tagen und mit denselben Dosen wie das vorige. Infiziert mit dem Milzbrand am 1. Juli. Ueberlebt.

Kaninchen No. 9.

Gewicht 1,620 kg. Temp. 38,1°.

18. Okt. 1902. 1. Impfung mit 12 mg Nukleoproteid.

15. Nov. 2. Impfung mit 24 mg Nukleoproteid.

27. Jan. 1903. 3. Impfung mit 20 mg Nukleoproteid.

15. März. 4. Impfung mit 57 mg Nukleoproteid.

Auf diese 4 ersten Injektionen folgt konstante Fieberreaktion.

8. Mai. Injektion mit 40 mm aktiver Substanz.

1. Juli. Infiziert mit virulenter Bouillonkultur des Milzbrandes. Zeigt während der 6 ersten Tage nach der Infektion keine Zeichen von Krankheit; in der Folge frißt es wenig, die Temperatur steigt, das Tier nimmt an Gewicht ab und verendet am 9. Tage. Das Kontrolltier verendete nach 2 Tagen.

Kaninchen No. 10.

Gewicht 1,650 kg. Temp. 38,4°.

12. Jan. 1903. 1. Impfung mit 0,022 g Nukleoproteid.

Starke Fieberreaktion an den 7 folgenden Tagen.

21. März. 2. Impfung mit 0,057 g aktiver Substanz.

Reagiert gleichfalls durch Fieber.

8. Mai. 3. Impfung mit 0,040 g Nukleoprotein.

Reaktion schwächer als das vorige Mal. Dann erholt es sich sehr gut.

1. Juli. Infiziert mit $\frac{1}{2}$ cem Bouillonkultur des im Ofen bei 37° 24 Stunden lang gehaltenen Milzbrandbacillus. Ueberlebt.

Kaninchen No. 11 und 12.

Geimpft an denselben Tagen wie das vorige und mit vollständig gleichen Dosen von Nukleoprotein. Zeigten dieselbe Fieberreaktion.

Ebenfalls am 1. Juli infiziert. Ueberlebten.

Uebersichtstabelle der bei der 2. Reihe von Experimenten mit dem Nukleoprotein des Milzbrandbacillus erhaltenen Resultate.

Lfd. No. der geimpften Kaninchen	Tage, an welchem die Impfungen ausgeführt wurden und Dosen aktiver Substanz (Nukleoprotein), die bei jeder Impfung verwendet wurden					Gesamtdosis des verwendeten Nukleoproteids	Zeit der Infektion	Ausgang	Kontrollkaninchen
I.	18. Okt. 1902	15. Nov. 1902	12. Jan. 1903	15. März 1903	—	0,094 g	1. Juli	überlebt	verwendet
II.	do.	do.	do.	do.	—	do.	do.	do.	do.
III.	do.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 6 Tagen überlebt	do.
IV.	do.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 8 Tagen überlebt	do.
V.	do.	do.	do.	do.	—	do.	do.	† nach 8 Tagen überlebt	do.
VI.	do.	do.	do.	do.	—	do.	do.	do.	do.
VII.	do.	do.	do.	15. März 0,057 g	8. Mai 0,040 g	0,153 g	do.	do.	do.
VIII.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
IX.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	† nach 8 Tagen überlebt	do.
X.	—	—	12. Jan. 0,022 g	21. März 0,057 g	do.	0,119 g	do.	do.	do.
XI.	—	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
XII.	—	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß von 12 Kaninchen, die mit progressiv steigenden Dosen von Nukleoprotein und in verschiedenem Zeitabstand geimpft und hierauf mit virulenten Bouillonkulturen von Milzbrand infiziert worden waren, 9 überlebten und 3 zu Grunde gingen. Von diesen 3 waren 2 $3\frac{1}{2}$ Monate seit der letzten Impfung infiziert, eins ca. 2 Monate nach der letzten Impfung. Von den Ueberlebenden waren 4 seit der letzten Inokulation von Impfstoff $3\frac{1}{2}$ Monate infiziert, die anderen seit einem geringeren Zeitabschnitt.

Die mit denselben Dosen der nämlichen Kulturen infizierten Kontrolltiere verwendeten konstant.

Einige Monate nach der Veröffentlichung meiner vorläufigen Mitteilung und während ich die 2. Reihe von Experimenten ausführte, erschien eine Arbeit von Galeotti über die immunisierende Wirkung der aus den Organen der immunisierten Tiere extrahierten Nukleoproteide¹⁾. In dieser Arbeit stellt sich der Verf. die Aufgabe, zu untersuchen, ob die aus den Organen aktiv gegen den Milzbrand immunisierter Tiere erhaltenen Nukleoproteide vorbeugende und heilende Eigenschaften besäßen, welche denen ähnlich wären, die das Blutserum erlangen kann. Galeotti bediente sich zur Immunisierung der Versuchstiere des aus

1) Il Morgagni. Anno XLV. Marzo 1903.

dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids, indem er dabei die oben beschriebene Technik beobachtete. Während Galeottis Untersuchungen vollständig das von mir Nachgewiesene bestätigen, nämlich daß man durch Behandlung der Kaninchen mit dem aus den Milzbrandbacillen extrahierten Nukleoprotein bei diesen Tieren eine aktive Immunität gegen die Milzbrandinfektion erzeugt, beweisen sie gleichfalls, daß nicht nur im Serum, sondern auch in den Organen dieser Tiere sich solche immunisierende Eigenschaften festsetzen, daß man aus ihren Geweben Eiweißstoffe erhalten kann, welche eine gewisse Wirksamkeit beim Verlauf des Milzbrandes entfalten, indem sie entweder einige Tiere vor dem Tode retten oder den Verlauf der Krankheit verlängern. Meinen und Galeottis Resultaten widersprechen die von Casagrandi¹⁾ erzielten, der eine Reihe von Versuchen anstellte, um durch verschiedene Methoden Tiere gegen den Milzbrand zu immunisieren. Er versuchte unter anderen die Impfmethode mit dem nach Lustig und Galeotti präparierten Nukleoprotein und inokulierte es Kaninchen unter der Haut in gesättigten Lösungen, die mit 0,25 Proz. Natriumkarbonat oder mit 1 Teil 0,25 Proz. Natriumkarbonat und 2 Teilen 0,85 Proz. Natriumchlorid bereitet waren. In der Abhandlung, in welcher diese Untersuchungen vorgetragen werden, sagt Casagrandi nicht, welche Methode er bei Präparierung des Nukleoproteids befolgt hat; es ist aber anzunehmen, daß er die Methode angewendet hat, welche in einer früheren Abhandlung²⁾ mit folgenden Worten beschrieben wird: 25 g frische Milzbrandvegetation werden in 6–7 Volumen 1-proz. Natriumkarbonat aufgelöst und die Mischung wird 3 Tage lang bei 4° C sich selbst überlassen; man filtriert durch 2 Bogen Löschpapier und fällt mit Essigsäure. Man sammelt den Niederschlag, löst ihn wieder auf in 0,25-proz. Natriumkarbonat und fällt nochmals; hierauf löst man bis zur Sättigung in einer Mischung, die aus 1 Teil 0,25-proz. Natriumkarbonat und 4 Teilen 0,85-proz. NaCl besteht.

Auf diese Weise hätte Casagrandi das von Lustig und Galeotti zur Auflösung des pesterregenden Bacillus verwendete Aetzkali durch Natriumkarbonat ersetzt. Außerdem spricht der Autor nicht von der Quantität aktiver Substanz, die er bei jeder Immunisierung verwendet hat, auch nicht von der Gesamtdosis dieser Substanz, als mehrere Inokulationen vorgenommen wurden. Er experimentierte an 6 Kaninchen. Bei einem führe er 3 Inokulationen von Nukleoprotein aus, eine jede 10 Tage nach der vorhergehenden, bei einem 2 Inokulationen in einem Abstand von 3 Tagen. Die 4 anderen Kaninchen erhielten eine einzige Inokulation. Bei allen 6 Kaninchen wurden die Inokulationen unter der Haut ausgeführt: nur beim 6. wurde sie unter der Haut und im Peritoneum ausgeführt, wobei es aber bei einer einzigen Inokulation blieb. Der Verf. sagt, infolge dieser Inokulationen seien die Kaninchen merklich abgemagert und hätten lokale Erscheinungen mit Ausgang in Nekrose dargeboten, so daß er mit der Inokulation des Milzbrandes wartete, bis sie ihr ursprüngliches Gewicht wiedererlangten, d. h. niemals eher als nach Verlauf von 8 Tagen seit der letzten Inokulation impfte. Aus der Uebersichtstabelle ergibt sich jedoch, daß 1 Kaninchen mit dem Milzbrand infiziert wurde 8 Tage nach der letzten Inokulation, 1 20 Tage

1) Casagrandi, Studi sul carbonchio ematico. Memoria VI. (Ann. d'Igiene sperimentale. Vol. XII. Fasc. 4. 1902. p. 618.)

2) Casagrandi, Studi sul carbonchio ematico. Memoria V. (Ann. d'Igiene sperimentale. Vol. XII. Fasc. 4. p. 600.)

danach, 1 nach 7 Tagen, 2 nach 2 Tagen und 1 nach 4 Tagen. Diese infizierten Kaninchen verendeten alle, woraus Casagrandi schließt, es sei nicht möglich, bei Kaninchen vermittelt des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids Immunität hervorzurufen. Er fügt hinzu, es sei gewiß, daß der gute Ausgang der Inokulation sehr gehemmt werde durch die reizende lokale Wirkung sowie durch die marantische des Materials, was ich wirklich nicht gefunden habe bei der Verwendung des von mir präparierten Nukleoproteids. Mir scheint, als ob die experimentellen Bedingungen Casagrandis, die sehr verschieden sind von denjenigen, welche Galeotti und ich zur Anwendung brachten, sehr wohl die von ihm konstant erhaltenen negativen Resultate erklären. Dasselbe mag gelten für die Untersuchungen von Paladino-Blandini¹⁾, der in einer seiner Arbeiten über die chemische Impfung gegen den Milzbrand die immunisierende Wirkung der Proteine der Sporen des *Bacillus anthracis* und der den Bacillen selbst entnommenen Proteine studierte, wobei er zu negativen Resultaten gelangte.

In neuerer Zeit hat Dr. Vigorita²⁾ zu beweisen versucht, daß das von ihm aus dem Milzbrandbacillus gewonnene Nukleoprotein keine immunisierende Wirkung bei den Versuchstieren zeigte. Zuerst isolierte er das Nukleoprotein aus den im flüssigen Nährboden kultivierten Milzbrandbacillen, in dem letzteren vermittelt Alkohol niederschlag und diesen Niederschlag mit einer 5-proz. Aetznatronlösung behandelte. Die Subkutanimpfung seines Nukleoproteides in die Kaninchen und Meerschweinchen gab immer negative Resultate. Darauf wendete Vigorita die von mir empfohlene Methode an, aber obschon er behauptet, die von mir empfohlene Methode ganz genau nach meiner Angabe angewendet zu haben, scheint mir doch aus seiner Arbeit das Gegenteil hervorzugehen.

Vigorita behauptet, daß die Agarkulturen des Milzbrandbacillus bei 37° C nicht üppig wachsen, und infolgedessen jene Vegetation zu gering wäre, um das Nukleoprotein daraus zugewinnen. In der Tat, wenn er auf der Agarplatte das Milzbrandblut und nicht die Milzbrandbouillonkulturen, welche bei 37° durch 48 Stunden gehalten werden, ausstreut, wie ich es getan habe, so ist er meinen Angaben nicht genau gefolgt. Es ist eine bekannte Tatsache, daß das Milzbrandblut einige Substanzen enthält, die das üppige Wachsen des Milzbrandbacillus in den künstlichen Nährböden hindern. Ueberdies enthält eine bestimmte Menge Milzbrandblutes eine außerordentlich geringere Zahl von Milzbrandkeimen als eine ebenso große Menge Bouillonkultur (bei 37° durch 48 Stunden im Thermostaten gehalten), wovon man sich leicht überzeugen kann bei mikroskopischer Untersuchung.

Es versteht sich, daß, wenn man eine größere Anzahl von Keimen ausstreut, man auch eine größere Anzahl Kolonien erhält, und demzufolge ist also auch die Milzbrandvegetation reichlicher.

Dr. Vigorita ist es nie gelungen, die Kaninchen und Meerschweinchen vermittelt des aus den Milzbrandbacillen gewonnenen Nukleoproteids gegen die Krankheit zu immunisieren, weil er allen seinen Versuchstieren auf eine ungenügende Weise die Schutzsubstanz subkutan einimpfte. Dies läßt sich leicht ersehen aus der Uebersicht seiner Experimente.

1) Riforma Medica. 1903. No. 20.

2) Vigorita, Sul valore profilattico del nucleoproteide del *Bacillus anthracis*. (Arch. intern. di medic. e chirurg. Anno XIX. Lavori originali.)

Einige der Versuchstiere des Dr. Vigorita sind gleich nach der Schutzimpfung mit dem Nukleoproteid gestorben. Dieses Resultat läßt sich leicht erklären, wenn man bedenkt, daß Vigorita eine unfiltrierte Substanz seiner Versuchstiere einimpfte, welche die Milzbrandsporen wahrscheinlich enthielt.

Aus meinen Untersuchungen, die von Galeotti bestätigt und systematisch mit hinreichenden, wohlbestimmten Dosen von Impfstoff ausgeführt wurden, ergibt sich folgende Schlußfolgerung:

Es ist möglich, den Kaninchen in der Mehrzahl der Fälle eine aktive Immunität gegen Milzbrandinfektion vermittelt des aus dem Milzbrandbacillus erhaltenen Nukleoproteids zu verleihen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus der pathologischen Abteilung des Karolinischen Institutes in Stockholm.]

IX. Ueber die künstliche Milzbrandimmunität des Hundes.

Von Dozent Alfred Pettersson.

Es ist schon von vornherein klar, daß das Wesen der künstlichen Milzbrandimmunität durch Untersuchung einer einzigen Tierart nicht erschöpft werden kann. Dazu sind die Verhältnisse bei den von Natur aus widerstandskräftigen Tieren von denen der empfänglichen allzu sehr verschieden. Man darf nicht erwarten, daß die beim Immunisieren des Kaninchens gefundenen Veränderungen dieselben seien wie beim Huhne. Dies geht aus den in den Abteilungen VII und VIII dieser Untersuchungen mitgeteilten Versuchen einer Erklärung der Empfänglichkeit des ersteren und Unempfänglichkeit des letzteren Tieres deutlich hervor. Eine Untersuchung der künstlichen Milzbrandimmunität muß also sowohl empfängliche als resistente Tiere umfassen. Als Vertreter der letzteren eignet sich der Hund sehr gut. Es ist nämlich wahrscheinlich, daß ein stärkerer Unterschied zwischen dem normalen und dem immunisierten Tiere entstehen wird, wenn ein gegen die Infektion weniger widerstandskräftiges Tier behandelt wird, als wenn man ein sehr resistentes, wie z. B. das Huhn, immunisiert. Ein solches allerdings sehr mächtig resistentes Tier ist eben der Hund. Außerdem hat er eine sehr passende Größe, um ausreichende Mengen Blut zu liefern.

Die Immunisierung wurde in sehr schonender Weise vorgenommen. Erst nach mehrmaligem Behandeln mit abgeschwächten Stämmen wurden vollvirulente injiziert. Nichtsdestoweniger gingen mehrere Tiere ein. Die Immunisierung wurde gewöhnlich fortgesetzt, bis die Hunde 10 große Agarkulturen eines vollvirulenten Stammes vertrugen, was gewöhnlich eine Zeit von etwa 3 Monaten in Anspruch nahm. Größere Kulturmengen wurden, um Abscesse und Nekrosen zu vermeiden, nicht subkutan, sondern intravenös und später ausschließlich intraperitoneal injiziert. Es zeigte sich nämlich, daß durch die intravenöse Injektion bisweilen multiple Gewebnekrosen der Nieren hervorgerufen wurden. Etwa 10—14 Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet.

Nebst älteren Hunden wurden auch mehrere junge immunisiert. Dabei wurden vom gleichen Wurf immer mehrere Kontrolltiere aufgehoben.

Selbstverständlich ist es nötig, um entscheiden zu können, welche Veränderungen im Hundekörper beim Immunisieren eintreten, zuerst die Verhältnisse beim normalen Tiere etwas näher festzustellen. Wie früher nachgewiesen wurde¹⁾, enthält das Hundeserum eine mäßig große Menge Immunkörper, entbehrt aber völlig eines auf Milzbrandbacillen wirkenden Komplements. Dies besitzen dagegen die Leukocyten in bedeutender Menge und außerdem ein wenig Immunkörper. Sie wirken nämlich in indifferenten Flüssigkeit allein schwach bakterizid. Die Affinitätsverhältnisse zwischen den Körperzellen und dem Immunkörper sind dagegen nicht untersucht worden (s. Tab. I u. II).

Nach halbstündigem Behandeln des Serums mit den Organen wird das Serum durch Kaninchenserum und Hundeleukocyten nicht mehr ergänzt. Freilich findet auch im behandelten Serum nach Zusatz von Leukocyten Abtötung statt. Diese ist aber gewöhnlich nicht größer als in der Mischung von Kochsalzlösung und Leukocyten. Der Immunkörper ist also absorbiert worden. Auch das Knochenmark und sogar

Tabelle I.

Hund C. Etwa 11 kg schweres, 5 Monate altes Weibchen. Die Organe des 18 Stunden vorher mit Aleuronat injizierten Tieres wurden nach Abkühlung auf Eis sofort verarbeitet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hundeserum		9 285
2)	1 " " + 0,05 ccm Kaninchenserum aktiv		0
3)	1 " " + Hundeleukocyten		5
4)	1 " " + 0,5 g Leber		2 544
5)	1 " " + 0,5 " Milz	} 1/2 Stunde bei 37°, dann zentrifugiert	6 867
6)	1 " " + 0,5 " Niere		12 010
7)	1 " " + 0,5 " Muskel		10 000
8)	1 " " + 0,5 " Knochenmark		12 388
9)	1 " " des mit No. 4 bezeichneten Serums + 0,05 ccm Kaninch.-Ser. akt.		3 561
10)	1 " " " " 5 " " + 0,05 " " "	über	10 000
11)	1 " " " " 6 " " + 0,05 " " "	"	10 000
12)	1 " " " " 7 " " + 0,05 " " "	"	10 000
13)	1 " " " " 8 " " + 0,05 " " "	"	11 575
14)	1 " " " " 4 " " + Hundeleukocyten		480
15)	1 " " " " 5 " " + " " "		248
16)	1 " " " " 6 " " + " " "		304
17)	1 " " " " 7 " " + " " "		142
18)	1 " " " " 8 " " + " " "		116
19)	1 " Hundeserum + 0,5 g Leber		3 180
20)	1 " " + 0,5 " Milz		9 540
21)	1 " " + 0,5 " Niere		13 556
22)	1 " " + 0,5 " Muskel		10 000
23)	1 " " + 0,5 " Knochenmark		60
24)	1 " " + 0,5 " Leber + 0,05 ccm Kaninchenserum akt.		1 620
25)	1 " " + 0,5 " Milz + 0,05 " " "	>	10 000
26)	1 " " + 0,5 " Niere + 0,05 " " "	>	10 000
27)	1 " " + 0,5 " Muskel + 0,05 " " "	>	10 000
28)	1 " " + 0,5 " Knochenm. + 0,05 " " "		135
29)	1 " " + 0,5 " Leber + Hundeleukocyten		84
30)	1 " " + 0,5 " Milz + " " "		6
31)	1 " " + 0,5 " Niere + " " "		56
32)	1 " " + 0,5 " Muskel + " " "		18
33)	1 " " + 0,5 " Knochenm. + " " "		1
34)	1 " Kochsalzlösung + 0,05 ccm aktives Kaninchenserum		5 000
35)	1 " " + Hundeleukocyten		175

1) Ba il, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. — Pettersson, Ebenda.

Tabelle II.

Hund D. 10 kg schweres Männchen vom gleichen Wurf wie der vorige. Anordnung wie im vorigen Versuche. Auszugsweise mitgeteilter Versuch.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hundeserum		5914
2)	1 " " + 0,1 ccm aktives Kaninchenserum		296
3)	1 " " + Hundeleukocyten		108
4)	1 " " + 0,5 g Hundeleukocyt. 1/2 Std. bei 37°	928 im Mittel	4134
5)	1 " " + 0,5 „ Knochenmark } darnach zentr.		4006
6)	1 " des m. No. 4 bez. Serums + 0,1 ccm akt. Kan.-Ser.		3507
7)	1 " " " " 5 " " + 0,1 " " "		4803
8)	1 " " " " 4 " " + Hundeleukocyten "		264
9)	1 " " " " 5 " " + " "		208
10)	1 " Kochsalzlösung + 0,1 ccm aktives Kaninchenserum		752
11)	1 " " + Hundeleukocyten		1064

die Leukocyten entnehmen dem Serum den Immunkörper. Werden sie aber mit dem Serum fortdauernd in Berührung gelassen, so entwickeln beide eine bedeutende bakterizide Wirkung, die größer ist, als wenn die genannten Substanzen in Kochsalzlösung verteilt werden. Setzt man zu dem aktiven Serum gleichzeitig mit der Einsaat zerriebene Hundorgane zu, bleibt die bakterizide Wirkung des Serums vollständig aus, wenn die Ergänzung des Hundeserums mit aktivem Kaninchenserum gemacht wurde. Nur das Knochenmark machte darin eine Ausnahme. Der Immunkörper wird also auch unter diesen Verhältnissen von allen Organen, mit Ausnahme des Knochenmark, absorbiert. Nach Ergänzung mit Hundeleukocyten findet dagegen auch bei Anwesenheit der Organe Abtötung statt. Eine Vertretung des Hundekomplementes durch das des Kaninchens ist also nicht möglich. Der Hund verhält sich ungefähr wie das Huhn. Bei diesem letzteren aber geben die Leukocyten und Knochenmarkzellen offenbar viel leichter ihr Komplement ab als beim Hunde. Sehr bemerkenswert ist die Eigenschaft der genannten Zellen des Hundes, den Immunkörper des Serums zu absorbieren. In dieser Hinsicht ähnelt der Hund dem Kaninchen.

Nach Feststellung dieser Tatsachen wurde zur Untersuchung des immunisierten Hundes geschritten. Wie früher hervorgehoben wurde, muß bei den widerstandsfähigen Tieren eine Vernichtung der eingeführten Keime stattfinden, weil die Empfänglichkeit eben durch eine unbeschränkte Vermehrung gekennzeichnet ist. Ein Auftreten von bakterizider Wirkung auf Milzbrandbacillen im Serum der immunisierten Tiere war deshalb sehr wahrscheinlich. Anfangs wurde auch eine Zeit lang darauf geprüft. Vor und zu verschiedenen Zeiten nach jeder Infektion wurden Blutproben genommen und das Serum auf milzbrandtötende Wirkung untersucht. Niemals wurde eine solche gefunden. Durch frühere Untersuchungen hatte ich die Erfahrung gewonnen, daß die Hundeleukocyten äußerst schwer ihr Milzbrandkomplement abgeben. Es ließ sich ebenfalls denken, daß das defibrinierte Blut, daß noch viel Leukocyten enthält, anders wirken könnte als das Serum. Der Versuch bestätigte dies (s. Tab. III).

Als Folge der Infektion tritt eine ganz bedeutende bakterizide Wirkung des Blutes auf. Die Angabe von Denys und Kaisin¹⁾ ist also in schönster Weise bestätigt worden. Die Bakterizidie wird durch die Hyperleukocytose hervorgerufen und steht bei jedem einzelnen Tiere in Beziehung zur Menge der weißen Blutkörperchen, also zur Menge des

1) Denys et Kaisin, La cellule. T. IX. 1903.

Tabelle III.

Hunde K und N, 2½ Monate alt, ungefähr 6 kg schwer und vom gleichen Wurf. Sie wurden seit etwa 6 Wochen gegen Milzbrand immunisiert. Jeder von ihnen bekam 5 große, 18-stündige Agarkulturen, der erste intravenös, der letztere subkutan. Vor der Infektion, sowie 6, 12 und 24 Stunden nach derselben wurden Blutproben genommen. Von jeder Probe wurde ein Teil defibriniert; der übrige wurde zum Gerinnen gestellt. Außerdem wurde bei jeder Blutentnahme die Zahl der weißen Blutkörperchen bestimmt.

a = in gewöhnlicher Weise gewonnenes Serum.

b = aus dem defibrinierten Blute durch Zentrifugieren gewonnenes Serum.

	Sofort	Nach 4 Stdn.	Zahl der weißen Blutkörper per ccm
1 ccm Serum a K ₁	928	6 300	
1 " " b K ₁		7 000	
1 " Blut K ₁		6 800	12 600
1 " Serum a K ₂	768	10 600	
1 " " b K ₂		9 000	
1 " Blut K ₂		46	25 700
1 " Serum a K ₃	960	7 200	
1 " " b K ₃		10 900	
1 " Blut K ₃		20	32 300
1 " Serum a K ₄	816	6 200	
1 " " b K ₄		7 000	
1 " Blut K ₄		120	21 500
1 " Serum a N ₁	920	5 500	
1 " " b N ₁		7 000	
1 " Blut N ₁		4 350	13 100
1 " Serum a N ₂	736	6 300	
1 " " b N ₂		6 800	
1 " Blut N ₂		14	20 900
1 " Serum a N ₃	784	10 000	
1 " " b N ₃		9 700	
1 " Blut N ₃		27	27 800
1 " Serum a N ₄	976	4 500	
1 " " b N ₄		6 600	
1 " Blut N ₄		8	22 700

anwesenden Komplements. Ein Uebertreten von diesem ins Serum findet aber nicht statt. Auch nicht durch das Defibrinieren ist dies zu bewirken. Dieser Befund widerlegt völlig, wenigstens betreffs des Hundebutes, die Anschauung von Metschnikoff in Bezug auf das Verhalten der Leukocyten beim Gerinnen des Blutes. Die weißen Blutkörperchen sollen dabei absterben und die Komplemente frei werden. Infolgedessen ist das Serum komplementhaltig, während das Plasma des lebenden Tieres komplementfrei sein soll. Ein solches Austreten des Milzbrandkomplements aus den Zellen bei der Gerinnung findet aber beim Hunde nicht statt. Es ist schwer einzusehen, daß andere Komplemente sich anders verhalten würden. Im Gegenteil liefert die angeführte Tatsache noch eine Stütze für die Annahme, daß die Komplemente des Serums von den Leukocyten während des Lebens abgeschieden werden. Ich habe schon früher¹⁾ mehrere Gründe für diese Anschauung angegeben.

Die Leukocytose beim infizierten Hunde dauert nicht sehr lange. Nach 2 Tagen sind die Leukocyten gewöhnlich nicht zahlreicher als vor der Infektion. Gleichzeitig mit der Verminderung der Leukocyten schwindet auch die bakterizide Wirkung des defibrinierten Blutes. Einen gewissen Unterschied zwischen Serum und defibriniertem Blute findet man oft auch bei nicht infizierten Tieren; über eine gewisse Hemmung steigt aber die Wirkung gewöhnlich nicht. Mehrmals wurden Versuche

1) Pettersson, Arch. f. Hyg. Bd. XLIII.

angestellt, um zu sehen, ob die Vermehrung der Leukocyten im Blute schneller ginge nach intravenöser Injektion der Milzbrandbacillen als nach einer solchen in die Peritonealhöhle oder unter die Haut. Ein bedeutender Unterschied wurde nicht beobachtet. Die chemotaktisch wirksamen Stoffe müssen auch nach subkutaner Injektion äußerst rasch in den Kreislauf übergehen.

Als die milzbrandtötende Wirkung des Blutes festgestellt worden war, mußte zunächst untersucht werden, ob das Blut auch in Berührung mit den Körperorganen die im Reagierglase gefundene Wirkung entfaltet.

Tabelle IV.

Hund P, 3 Monate altes, 5 kg schweres Weibchen, das 7 Wochen mit Milzbrandbacillen vorbehandelt worden war. Der Hund wurde am frühen Morgen mit einer Aufschwemmung von 3 Agarkulturen Milzbrandbacillen intravenös injiziert und nach 6 Stunden entblutet. Das Blut wurde teils defibriert, teils zum Gerinnen gestellt. Die Organe wurden nach Abkühlen auf Eis sofort verarbeitet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
Ohne Ein- saat	1 ccm Serum + 0,5 g Leber	0	0
	1 " " + 0,5 " Milz	3	1
	1 " " + 0,5 " Niere	16	12
	1 " " + 0,5 " Knochenmark	0	0
	1 " " + 0,5 " Muskel	2	0
Mit Ein- saat	1 " " defibriertes Blut	1080	10 112
	1 " " Serum + 0,5 g Leber	1136	0
	1 " " " + 0,5 " Milz	964	1 408
	1 " " " + 0,5 " Niere	896	3 243
	1 " " " + 0,5 " Knochenmark	1168	13 674
	1 " " " + 0,5 " Muskel	952	9
	1 " " defibriertes Blut + 0,5 g Leber	1080	6 296
	1 " " " + 0,5 " Milz		3
	1 " " " + 0,5 " Niere		32
	1 " " " + 0,5 " Knochenmark		98
	1 " " " + 0,5 " Muskel		1
	1 " " " + 0,5 " Muskel		13

Innerhalb 6 Stunden sind die eingeführten Bakterien im Tierkörper größtenteils abgetötet und die noch vorhandenen sterben sogar in der Mischung von Organen und Serum allmählich ab, offenbar durch die Wirkung der in den Organen zurückgebliebenen Leukocyten. Werden neue Bakterien zugesetzt, so ist das Serum gegen dieselben wirkungslos, das Blut ist dagegen noch im stande, eine bedeutende Menge zu vernichten. Etwa in derselben Weise verhält sich auch der nicht immunisierte Hund, nur ist der Effekt in allen Beziehungen bedeutend kleiner (s. Tab. V).

Auch bei diesem Tiere sind die eingeführten Bakterien größtenteils vernichtet worden. Die Schutzkräfte des Hundekörpers sind aber dadurch so stark in Anspruch genommen, daß die neu zugefügten Bakterien nur wenig beeinflußt werden.

Da die Milzbrandimmunität offenbar eine bakterizide Immunität ist, entsteht sofort die Frage, ob während des Immunisierens eine Neubildung von Immunkörper eintritt, wie bei der Immunisierung gegen Cholera und Typhus. Die Menge des Immunkörpers wurde deshalb mehrmals bestimmt sowohl während der Immunisierung als nach Abschluß derselben. Die Bestimmung geschah teils direkt durch Untersuchung der bakteriziden Wirkung des verschieden stark verdünnten Serums nach Ergänzen mit Kaninchenserum und Hundeleukocyten, teils indirekt durch Absorption mit toten Bakterien. Die gewonnenen Werte wurden mit den vor Beginn der Immunisierung erhaltenen verglichen

Tabelle V.

Normaler Hund S, 5,2 kg schweres Weibchen vom gleichen Wurfe wie das vorige. Anordnung wie im vorigen Versuche.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
Ohne Ein- saat	1 ccm Serum + 0,5 g Leber	0	0
	1 " " + 0,5 " Milz	0	0
	1 " " + 0,5 " Niere	7	6
	1 " " + 0,5 " Knochenmark	0	0
	1 " " + 0,5 " Muskel	0	0
Mit Einsaat	1 " defibriniertes Blut	984	10 100
	1 " Serum + 0,5 g Leber	1024	4 600
	1 " " + 0,5 " Milz	1088	7 800
	1 " " + 0,5 " Niere	936	9 500
	1 " " + 0,5 " Knochenmark	1120	11 000
	1 " " + 0,5 " Muskel	832	525
	1 " defibriniertes Blut + 0,5 g Leber	1208	10 600
	1 " " + 0,5 " Milz		250
	1 " " + 0,5 " Niere		700
	1 " " + 0,5 " Knochenmark		420
	1 " " + 0,5 " Muskel		0
	1 " " + 0,5 " Muskel		630

und bei jungen Tieren außerdem mit den Werten der Sera anderer Tiere vom gleichen Wurfe.

Tabelle VI.

Hund B. Ausgewachsenes, 12 kg schweres Männchen. Vor der Immunisierung genügte $\frac{1}{5}$ Agarkultur Milzbrandbacillen per ccm Serum, um den Immunkörper zu absorbieren und nach Verdünnen mit 2 Teilen Kochsalzlösung trat bei einer Einsaat von ca. 1000 Keimen in der mit aktivem Kaninchenserum ergänzten Mischung innerhalb 4 Stunden Wachstum ein. Der Hund bekam als letzte Immunisierungsdosis 14 Tage vorher 10 große Schrägagarkulturen Milzbrandbacillen intravenös. Zur Absorption wurden je 2 ccm Hundeserum mit bei 100 abgetöteten Milzbrandbacillen behandelt

und zwar:

a	2 ccm Hundeserum mit $\frac{2}{5}$	} Agarkulturen.
b	2 " " " $\frac{2}{5}$	
c	2 " " " $\frac{2}{5}$	

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1,0 ccm Hundeserum a	+ 0,05 ccm Kaninchenserum aktiv		160
1,0 " " b	+ 0,05 " " "		8 967
1,0 " " c	+ 0,05 " " "		10 000
1,0 " " a	+ Hundeleukocyten B		7 632
1,0 " " b	+ " " "		10 000
1,0 " " c	+ " " "		10 000
1,0 " " "			10 000
1,0 " " "	+ 0,05 ccm Kaninchenserum aktiv		72
0,5 " " "	+ 0,5 ccm NaCl + 0,05 " " "		5 833
0,3 " " "	+ 0,7 " " + 0,05 " " "		10 875
0,1 " " "	+ 0,9 " " + 0,05 " " "		10 000
1,0 " " "	+ Hundeleukocyten B		268
0,5 " " "	+ 0,5 ccm NaCl + " " "		576
0,3 " " "	+ 0,7 " " + " " "		1 462
0,1 " " "	+ 0,9 " " + " " "		1 348
1,0 " "	Kochsalzlösung + 0,05 ccm aktives Kaninchenserum		10 000
1,0 " "	" + Hundeleukocyten B		1 653

1318 im Mittel

Da man nicht ohne weiteres annehmen durfte, daß ein eventuell neugebildeter Immunkörper dieselbe Affinität zum Kaninchenkomplement besitzt wie der normale, so wurde das Serum auch mit den eigenen Leukocyten ergänzt. Zu ihrem Komplement sollte er gleichfalls passen. Das Resultat ist in beiden Fällen dasselbe. Eine Vermehrung des Immunkörpers hat nicht stattgefunden. Das Serum verhält sich in dieser Hinsicht nach dem Immunisieren genau so wie vor demselben. Auch bei jungen Hunden entsteht keine Neubildung von Immunkörpern.

Tabelle VII.

Hunde D und E. Zwei Männchen vom gleichen Wurf, 5 Monate alt und etwa 9 kg schwer. Der Hund E war während drei Monaten mit Milzbrandbacillen vorbehandelt worden und hatte vor 10 Tagen die letzte Injektion von 10 Agarkulturen bekommen. Zur Absorption wurden von jedem Serum hergestellt:

a	1 ccm	Hundeserum mit $\frac{1}{2}$	} Agarkulturen.
b	1 "	" " " 1	
c	1 "	" " " 2	

10 ccm Hundeserum		D				Sofort	Nach 4 Stdn.
		D	+ 0,05	ccm aktives Kaninchenserum			10 000
19	"	Da	+ 0,05	" "	" "		42
19	"	Db	+ 0,05	" "	" "		7 441
19	"	Dc	+ 0,05	" "	" "		10 000
19	"	E		" "	" "		10 000
19	"	Ea	+ 0,05	" "	" "		10 000
19	"	Eb	+ 0,05	" "	" "		5
19	"	Ec	+ 0,05	" "	" "		9 730
05	"	D	+ 0,5	ccm NaCl + 0,05 ccm akt. Kaninchenserum		706 im Mittel	10 000
05	"	D	+ 0,7	" " + 0,05 " " "			2 284
02	"	D	+ 0,8	" " + 0,05 " " "			8 013
05	"	E	+ 0,7	" " + 0,05 " " "			10 000
03	"	E	+ 0,7	" " + 0,05 " " "			3 242
02	"	E	+ 0,8	" " + 0,05 " " "			13 408
	"						10 000

Bei Ergänzung mit Hundeleukocyten fiel der Versuch genau in derselben Weise aus. Eine Bildung von Immunkörper wird also durch die Immunisierung nicht hervorgerufen. Dieses unerwartete Ergebnis steht aber nicht vereinzelt da. Auch Lipstein¹⁾ konnte nachweisen, daß beim Immunisieren gegen Diphtheriebacillen kein zu diesen passender Ambozeptor entsteht. Freilich handelt es sich in Bezug auf den Diphtheriebacillus um eine antitoxische Immunität, die eingeführten Bacillen müssen aber in jedem Falle im Tierkörper vernichtet werden. Bei Injektion von großen Mengen Bakterien muß ein bedeutender Verbrauch von Ambozeptor stattfinden, der nach der Ehrlich'schen Anschauung zur Neubildung führen sollte.

Nach den von Bail und mir dargestellten Anschauungen über die Bedeutung der ungleichen Affinität zwischen Immunkörper einerseits und Bakterien bezw. Körperzellen andererseits für die Erklärung der Milzbrandimmunität wäre es annehmbar, daß auch ohne Vermehrung des Immunkörpers eine solche Veränderung beim immunisierten Tiere stattfinden könne, daß die Abtötung der eingeführten Keime weit besser von statten ginge als bei dem normalen Tiere. Es konnte z. B. die Affinität des Immunkörpers zu den Organzellen abgeschwächt werden oder die zu den Bakterienzellen so erhöht werden, daß er auch bei Anwesenheit von Organzellen sich immer den Bakterien anlagerte (s. Tab. VII.)

Die Mischung von Organen und Serum oder Kochsalzlösung ohne Leukocyten gestattete unbeschränktes Wachstum. Nur das Knochenmark zeigte in Verbindung mit Hundeserum Abtötung, mit Ochsen Serum und Kochsalzlösung starke Hemmung (s. Tab. VIII).

Niere, Hoden und Gehirn verhielten sich genau so wie Milz und Muskel.

Aus dem Angeführten geht hervor, daß das Hundeserum gegenüber den Organen dieselbe Eigenschaft wie vor der Immunisierung zeigt.

1) Lipstein, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV.

Tabelle VIII.

Hund J, Pointer, 20 kg schweres, ausgewachsenes Weibchen. Hatte vor 10 Tagen ihre letzte Injektion von 10 Agarkulturen bekommen. Wurde 18 Stunden vor dem Entbluten mit Aleuronat injiziert. Die Organe wurden nach Abkühlen auf Eis sofort verarbeitet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1	ccm Hundeserum		7 059
1	" Ochsenserum		10 430
1	" Kochsalzlösung		0
1	" Hundeserum + Hundeleukocyt.		0
1	" Ochsenserum + "		120
1	" Kochsalzlösung + "		340
1	" Hundeserum + 0,5 g Leber	} bei 1/3 Std. bei 37° dar-nach zentrifugiert	+ Hundeleuk. 400
1	" " + 0,5 " Milz		+ " 64
1	" " + 0,5 " Niere		+ " 832
1	" " + 0,5 " Muskel		+ " 104
1	" " + 0,5 " Knochenm.		+ " 284
1	" " + 0,5 " Leber		+ " 320
1	" " + 0,5 " Milz		+ " 20
1	" " + 0,5 " Niere		+ " 80
1	" " + 0,5 " Muskel		+ " 270
1	" " + 0,5 " Knochenmark		+ " 10
1	" Ochsenserum + 0,5 " Leber	} 1027 im Mittel	+ " 496
1	" " + 0,5 " Milz		+ " 112
1	" " + 0,5 " Niere		+ " 232
1	" " + 0,5 " Muskel		+ " 848
1	" " + 0,5 " Knochenmark		+ " 328
1	" Kochsalzlösg. + 0,5 " Leber		+ " 10 000
1	" " + 0,5 " Milz		+ " 6 996
1	" " + 0,5 " Niere		+ " 6 400
1	" " + 0,5 " Muskel		+ " 5 914
1	" " + 0,5 " Knochenmark		+ " 20

Tabelle IX.

Organe und Serum des 14 Stunden vorher mit Aleuronat intrapleural injizierten Hundes B (siehe Tab. VI).

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm Hundeserum		3625
2)	1 " " + 0,05 ccm aktives Kaninchenserum		8
3)	1 " " + Hundeleukocyten		120
4)	1 " " + 0,5 g Leber	} 1/3 Std. bei 37°, dar-nach zentrifugiert	4070
5)	1 " " + 0,5 " Milz		4579
6)	1 " " + 0,5 " Muskel		6015
7)	1 " " + 0,5 " Knochenm.		3116
8)	1 " des m. No. 4 bez. Serums + 0,05 ccm akt. Kan.-Ser.		4197
9)	1 " " " " 5 " " + 0,05 " " "		6868
10)	1 " " " " 6 " " + 0,05 " " "		4452
11)	1 " " " " 7 " " + 0,05 " " "		3365
12)	1 " " " " 4 " " + Hundeleukocyten	} 1556 im Mittel	742
13)	1 " " " " 5 " " + "		1104
14)	1 " " " " 6 " " + "		848
15)	1 " " " " 7 " " + "		576
16)	1 " Hundeserum + 0,5 g Leber		3307
17)	1 " " + 0,5 " Milz		7632
18)	1 " " + 0,5 " Muskel		8013
19)	1 " " + 0,5 " Knochenm.		320
20)	1 " " + 0,5 " Leber + 0,05 ccm akt. K.-S.		3561
21)	1 " " + 0,5 " Milz + 0,05 " " "		8776
22)	1 " " + 0,5 " Muskel + 0,05 " " "		7822
23)	1 " " + 0,5 " Knochenm. + 0,05 " " "		584
24)	1 " " + 0,5 " Leber + Hundeleukocyten		160
25)	1 " " + 0,5 " Milz + "		280
26)	1 " " + 0,5 " Muskel + "		184
27)	1 " " + 0,5 " Knochenm. + "	118	

Der Immunkörper wird fortwährend von den Organen sehr energisch absorbiert; sogar wenn das Serum vorher mit Kaninchenserum ergänzt wurde, geht er bei gleichzeitiger Anwesenheit von Milzbrandbacillen und Organzellen unbedingt zu den letzteren. Nach dem Ergänzen des Hundeserums mit den eigenen Leukocyten ändert sich aber das Verhältnis. Dann lagert sich wenigstens ein großer Teil des Immunkörpers an die Bacillen an und eine bedeutende Abtötung findet statt. Ein Vertreten des Hundekomplements durch das Kaninchenkomplement ist bei dem immunisierten ebensowenig wie bei dem normalen Hunde möglich. Ein Ersatz des Hundekomplements durch Ochsen oder, wie aus anderen Versuchen hervorging, durch Kaninchenimmunkörper ist dagegen bis zu einem gewissen Grade zulässig, ohne daß die Bakterizidie aufhört. Beim Ersatz des Immunkörpers eines immunisierten Hundes mit einem der genannten Sera wird freilich die Abtötung der Milzbrandbacillen nicht so stark. Wahrscheinlich paßt das Hundekomplement zu den fremdartigen Immunkörpern nicht so gut. Findet aber der Ersatz durch den Immunkörper eines normalen Hundes statt, dann ist eine Abschwächung der Bakterizidie nicht zu beobachten.

Tabelle X.

Hunde C, Weibchen, und F, Männchen, vom gleichen Wurf, zwischen 10 und 11 kg schwer, 5 Monate alt. Der erste war nicht vorbehandelt; der letztere war immunisiert worden und hatte die letzte Injektion von 10 Agarkulturen vor 10 Tagen bekommen. Anordnung wie früher.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1 ccm Serum	F		6487
1 "	" F + Hundeleukocyten F		56
1 "	" F + 0,5 g Leber F + Hundeleukocyten F	Mittel	19
1 "	" F + 0,5 " Niere F + "	"	64
1 "	" F + 0,5 " Muskel F + "	"	82
1 "	" C	im Mittel	7000
1 "	" C + Hundeleukocyten F		60
1 "	" C + 0,5 g Leber F + Hundeleukocyten F	569	48
1 "	" C + 0,5 " Niere F + "	"	11
1 "	" C + 0,5 " Muskel F + "	"	128

Milz und Gehirn gaben ganz ähnliche Resultate. Eine Veränderung des Immunkörpers durch das Immunisieren ist sehr unwahrscheinlich und mit unseren jetzigen Methoden nicht nachweisbar.

Vielleicht ändern sich aber die Organe. Mehrere Versuche wurden angestellt, um dies zu untersuchen. Ein Unterschied zwischen den Organen immunisierter und denen normaler Tiere wurde aber nicht gefunden. Sogar die Organe des Kaninchens entnehmen den mit Hundeleukocyten ergänzten Seris den Immunkörper nicht besser als die Hundeorgane. Als Beispiel mag folgender Versuch angeführt werden (s. Tab. XI).

Das einzige Notwendige für das Eintreten der Milzbrandabtötung ist die Anwesenheit der Hundeleukocyten, d. h. des Hundekomplements. Organe und Immunkörper können durch solche anderer Tiere ersetzt werden. Versucht man aber das Komplement mit dem Kaninchenkomplement zu vertauschen, so hört, wie früher hervorgehoben wurde, die Milzbrandabtötung sofort auf. Die natürliche Immunität des Hundes muß auf irgend eine Eigenschaft des Komplements zurückgeführt werden. Es lag dann sehr nahe, zu denken, daß die künstliche Immunität vielleicht in einer Vermehrung des Komplements bestände. Eine genaue Bestimmung des Komplements dürfte nicht möglich sein, solange es in den Leukocyten eingeschlossen ist. Diese sind für diesen Zweck näm-

Tabelle XI.

Hund T, ausgewachsenes, 25 kg schweres Männchen. Das Tier wurde 18 Stunden vor dem Entbluten mit Aleuronat intrapleurale injiziert. Gleichzeitig mit dem Hunde wurde ein Kaninchen entblutet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1	ccm Hundeserum		8813
1	" " + Hundeleukocyten		0
1	" " + 0,5 g Hundeleber + Hundeleukocyt.		56
1	" " + 0,5 " Hundemilz + "		13
1	" " + 0,5 " Hundeniere + "		14
1	" " + 0,5 " Hundeknochenm. + "		11
1	" " + 0,5 " Hundemuskel + "		9
1	" Kaninchens. + 0,5 " Hundeleber + "		35
1	" " + 0,5 " Hundemilz + "		13
1	" " + 0,5 " Hundeniere + "		184
1	" " + 0,5 " Hundeknochenm. + "		6
1	" " + 0,5 " Hundemuskel + "		104
1	" " + 0,5 " Kaninch.-Leber + "		92
1	" " + 0,5 " Kaninch.-Milz + "		72
1	" " + 0,5 " Kaninch.-Niere + "		105
1	" " + 0,5 " Kan.-Knochenm. + "		6
1	" " + 0,5 " Kaninch.-Muskel + "		64

975 im Mittel

lich kaum zu benutzen, weil man sie ohne Beimischung nicht bekommen kann. Die Exsudate von verschiedenen Tieren zeigen sehr ungleich große Mengen von roten Blutkörperchen und Fibrin. Statt der Leukocyten untersuchte ich deshalb das Knochenmark von gleich großen Hunden vom gleichen Wurfe.

Tabelle XII.

Hunde N und Q, 3 Monate alt, 5,6 bzw. 5,5 kg schwer, vom gleichen Wurfe. Der erste, ein Weibchen, war während 7 Wochen mit Milzbrand immunisiert worden und bekam die letzte Injektion, 5 Agarkulturen, 6 Tage vor dem Entbluten. Der zweite Hund, ein Männchen, war nicht vorbehandelt. Bei beiden Hunden wurde das Mark aus denselben Knochen genommen.

		Sofort	Nach 3 Stdn.	Nach 7 Stdn.	Nach 11 Stdn.
1	ccm Serum N + 0,25 g Knochenmark N		8	1	1531
1	" " N + 0,10 " "		101	49	2536
1	" " N + 0,05 " "		196	960	10000
1	" " Q + 0,25 " "		162	8	1664
1	" " Q + 0,10 " "		284	384	9544
1	" " Q + 0,05 " "		536	9771	> 10000

1026 i. Mittel

Um den Versuchsfehler zu vermindern, wurden zwei Versuchsreihen angestellt. Die wiedergegebenen Zahlen sind die Mittelwerte von beiden. Ein kleiner Unterschied in milzbrandtötender Wirkung zwischen dem Marke des immunisierten und dem des normalen Tieres ist nicht zu verkennen. Ein zweiter Versuch fiel in derselben Weise aus. Ein Austausch der Sera änderte nichts, Ersatz des Serums durch Kochsalzlösung hob dagegen den Unterschied auf. Es wäre also möglich, daß die Immunisierung eine Vermehrung des auf Milzbrandbacillen wirkenden Komplementes des Hundes veranlaßt. Sehr groß scheint diese Vermehrung jedenfalls nicht zu sein und es kommt mir unwahrscheinlich vor, daß die durch das Immunisieren erworbene Widerstandsfähigkeit nur darauf beruhen sollte.

Das Serum der immunisierten Tiere wurde wiederholt in verschiedenen Dosen bei Meerschweinchen und Mäusen auf Schutzwirkung geprüft. Einen Erfolg hatten diese Versuche nie, oft gingen die mit Serum injizierten Tiere sogar früher ein als die Kontrolltiere. Auch Bail konnte, wie er mir gütigst mitgeteilt hat, keine Schutzwirkung vom Serum eines immunisierten Hundes nachweisen. Dies stimmt mit den oben mitgeteilten Versuchen sehr gut. Im Serum wurde weder bei

normalen noch bei immunisierten Hunden ein gegen Milzbrandbacillen spezifisch wirksamer Körper gefunden. Ein solcher, das Komplement, steckt dagegen in den Leukocyten. Deshalb wurden auch diese auf Schutzwirkung geprüft.

Tabelle XIII.

Ein Teil der vom Hunde E (siehe Tab. VII!) erhaltenen Leukocyten wurde nach mehrmaligem Waschen in ungefähr halb soviel Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die Versuchstiere wurden zuerst mit $\frac{1}{10}$ bzw. $\frac{1}{20}$ ccm 18-stündiger Milzbrandbouillonkultur (ca. 16 000 bzw. 8000 Bacillen) und darnach mit der Leukocytenaufschwemmung intra-peritoneal injiziert.

	Menge der Kultur	Menge der Leukocyten-aufschwemmung	Lebensdauer der Tiere
Kaninchen ca. 1500 g	0,1 ccm	3 ccm	4 Tage
" " 1500 "	0,1 "	3 "	überlebt
" " 1500 "	0,1 "	keine Leukocyten	2 Tage
Meerschweinchen 590 "	0,05 "	1,0 ccm	überlebt
" 610 "	0,05 "	0,5 "	
" 600 "	0,05 "	keine Leukocyten	2 Tage

Tabelle XIV.

Hund B (siehe Tab. VI!). Zum Versuche diente Serum und 1 g Leukocyten in Kochsalzlösung. Intraperitoneale Injektion. Anordnung wie im vorigen Versuche.

	Menge der injizierten Kultur	Menge des Serums oder der Leukocyten	Lebensdauer der Tiere
Meerschweinchen 670 g	0,1 ccm (= 15 000 Bac.)	2 ccm Serum	4 $\frac{1}{2}$ Tage
" 640 "	0,1 "	1 "	4 "
" 550 "	0,1 "	1 g Leukocyten	überlebt
" 690 "	0,1 "	ohne Serum und Leukocyten	3 $\frac{1}{2}$ Tage

Tabelle XV.

Hund F (siehe Tab. XI!). Injektion von Milzbrandkultur und Serum bzw. Leukocyten subkutan an derselben Stelle. Sonst wie in den vorigen Versuchen.

	Menge der Kultur	Menge des Serums bzw. der Leukocyten	Lebensdauer der Tiere
Meerschweinchen 330 g	0,1 ccm (ca. 12 000 Bac.)	1,0 ccm Serum	2 Tage
" 360 "	0,1 "	0,5 "	1 $\frac{1}{2}$ "
" 390 "	0,1 "	1,0 g Leukocyten	überlebt
" 290 "	0,1 "	0,5 "	2 $\frac{1}{2}$ Tage
" 370 "	0,1 "	ohne Serum und Leukocyten	2 $\frac{1}{2}$ "

Tabelle XVI.

Hund J (siehe Tab. VIII!). Injektion von Milzbrandkultur und Leukocyten subkutan an getrennten Stellen. Sonst wie früher.

	Menge der injizierten Kultur	Menge der injizierten Leukocyten	Lebensdauer der Tiere
Meerschweinchen 510 g	0,1 ccm (ca. 20 000 Bac.)	1,5 g	4 Tage
" 450 "	0,1 "	1,0 "	2 "
" 390 "	0,1 "	0,5 "	2 "
" 570 "	0,1 "	ohne Leukocyten	2 "

Es dürfte keinem Zweifel unterliegen, daß die Leukocyten eine gewisse Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion entwickeln. Sehr groß ist die Wirkung freilich nicht. Es sind verhältnismäßig große Mengen Leukocyten nötig, um den tödlichen Ausgang zu verhindern, und dazu müssen sie an derselben Stelle wie die Bacillen injiziert werden. Auch nicht bei allen Tieren ist der Erfolg derselbe. Bei weißen Mäusen war die Schutzwirkung viel schwächer. Nichtsdestoweniger ist diese Erscheinung von großer Wichtigkeit. Alle Versuche im Reagierglase wiesen darauf hin, daß eine spezifische Wirkung auf die Milzbrandbacillen nur dem Komplemente zukommt. Wurde das Hundeserum mit Kaninchenserum ergänzt, so hörte bei Anwesenheit der Körperorgane die sonst starke milzbrandbacillentötende Wirkung auf. Dagegen konnten bei Verwendung von Hundekomplement sowohl Immunkörper als Körperorgane mit entsprechenden Teilen anderer Tiere ersetzt werden, ohne daß die Bakterizidie wesentliche Einschränkung erfuhr. Daraus wurde wahrscheinlich, daß durch Einführen von Hundekomplement (Hundeleukocyten) in einen fremden Tierkörper eine Milzbrandabtötung veranlaßt werden konnte, die bei diesem Tiere sonst nicht eintreten würde, d. h. daß der tödliche Ausgang der Infektion eines empfänglichen Tieres dadurch zu verhindern wäre. Versuche mit Meerschweinchen und Kaninchen bestätigten diese Annahme vollständig.

Nach diesen Auslegungen wird es ganz klar, welche bedeutende Rolle den Leukocyten für die Milzbrandimmunität des Hundes zukommt. Die injizierten Bacillen befinden sich zuerst in einer Flüssigkeit, die fast unwirksam ist, da sie eigentlich nur Immunkörper enthält. Durch die chemotaktische Wirkung der Bacillen eilen aber aus dem Knochenmark Leukocyten in die Blutbahn und weiter zu den gefährdeten Stellen. Dadurch wird das für das Entstehen einer Bakterizidie nötige Komplement herbeigeführt. Der Ausgang der Infektion ist von der Größe der Leukocytose abhängig und der Unterschied zwischen dem normalen und dem immunisierten Tiere scheint darin zu bestehen, daß bei dem letzteren eine weit größere Menge Leukocyten zu der Infektionsstelle kommen als bei dem ersten. Außerdem sind die Leukocyten des immunisierten Hundes vielleicht reicher an Komplement als die des normalen. Es ist sehr leicht, sich von der Ueberlegenheit der bakteriziden Wirkung des immunisierten Hundes zu überzeugen. Injiziert man eine recht große Menge von Milzbrandbacillen in die Bauchhöhle eines immunisierten Hundes, so entsteht schon innerhalb einer Stunde reichlich trübes, an Leukocyten sehr reiches Exsudat und im Blute haben die weißen Blutkörperchen an Zahl bedeutend zugenommen. Die Bakterien sind meistens schon nach dieser Zeit aufgelöst. Nichtsdestoweniger setzt sich die Zuströmung von Leukocyten noch lange fort und das Tier ist, wie Versuch IV zeigt, im stande, noch bedeutende Mengen von Bakterien zu vernichten. Nach Injektion gleich großer Menge Bakterien bei einem normalen Hunde entsteht auch ein Exsudat. Dies ist aber viel ärmer an Leukocyten und die Zahl der weißen Blutkörperchen steigt nur sehr mäßig im Blute. Die Bacillen verschwinden nicht vollständig im Exsudate, sondern fangen nach einer Zeit an, sich zu vermehren, und das Tier geht schließlich ein. Auch bei immunisierten Hunden kann ein solcher Ausgang vorkommen, wenn die injizierte Bakterienmenge sehr groß ist. Hund H, mehrere Jahre altes, 11 kg schweres Foxterriermännchen, war 6 Wochen mit steigenden Dosen Milzbrand-

bacillen vorbehandelt worden. Nach intraperitonealer Injektion von 8 Agarkulturen ging das Tier in 3 Tagen zu Grunde.

Der Unterschied zwischen immunisierten und normalen Tieren in Bezug auf die Leukocyten ist seit lange von Metschnikoff hervorgehoben worden. Nach diesem Forscher kommt aber bei der Bakterienvernichtung nur die Phagocytose in Betracht, die sogar ohne Mitwirken des Immunkörpers stattfindet. Bei der Abtötung der Milzbrandbacillen in der Bauchhöhle des Hundes beobachtete ich immer eine extracelluläre Auflösung. Auf eine vorherige Injektion von frischer Bouillon habe ich verzichtet, da sich das Tier nach diesem Behandeln kaum mehr in normalem Zustande befindet. Die Bedeutung des Immunkörpers für die Bakterizidie geht schon aus dem Unterschiede in der bakteriziden Wirkung der Leukocyten im Serum und in Kochsalzlösung deutlich hervor.

Das Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen dürfte in folgenden Sätzen zusammengefaßt werden können.

Die Milzbrandinfektion veranlaßt beim Hunde eine bedeutende Steigerung der bakteriziden Kraft des Blutes durch Zufuhr des für die Bakterizidie nötigen Komplements.

Das Serum allein ist nach wie vor der Infektion völlig unwirksam.

Die Immunisierung des Hundes gegen Milzbrand bringt keine Neubildung von Immunkörper hervor; eine Neubildung von Komplement scheint dagegen nicht ausgeschlossen zu sein.

Das auf die Milzbrandbacillen spezifisch wirkende Agens ist sowohl bei dem normalen als dem immunisierten Hunde das Komplement.

Dieses entfaltet auch bei fremden Tieren eine gewisse Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion.

Der immunisierte Hund entfaltet bei der Milzbrandinfektion eine weit stärkere Leukocytose als der normale, und infolgedessen entsteht bei dem ersten eine viel größere Zufuhr von wirksamem Komplement zu den gefährdeten Stellen als bei dem letzteren.

Stockholm, Oktober 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakterientötende Kraft des reinen Blutes — des plasmafreien Blutes — des Plasmas und des Serums normaler und immunisierter Tauben gegen den Milzbrandbacillus.

[Aus dem Laboratorium der chirurgischen Klinik zu Padua
(Prof. Bassini).]

Beitrag zur Physiologie des Blutes und zur Kenntnis der
Immunität und der Immunisierung.

Von Dr. **Saverio Spangaro**,
ehemaligem Assistenten am pathol. Institute zu Padua, unter Mitwirkung des
cand. med. G. Mioni.

Die bisherigen Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Blutes wurden mit durch Zusatz von Salzen, durch intravenöse Pepton-

einspritzung oder durch Konservierung bei niedriger Temperatur künstlich flüssig erhaltenem Blute angestellt, alles Hilfsmittel, welche die natürliche Zusammensetzung des Blutes mehr oder weniger modifizieren müßten.

Ich gedachte, die bakterientötende Wirkung des reinen Blutes mit Benutzung des von Delezenne und mir zuerst illustrierten Befundes zu prüfen. Wenn nämlich das Blut von Vögeln [Delezenne¹⁾, Spangaro²⁾] oder Säugetieren [Spangaro, l. c.³⁾] mittels eines Glasröhrchens direkt der Blutbahn entnommen und in reine, trockene und sterile Gefäße geleitet wird, ohne mit der Wunde in Berührung zu kommen, so erhält es sich viel länger flüssig, als ohne diese Vorsichtsmaßregeln; das Vogelblut z. B. vermag 12—24 Stunden und manchmal noch länger flüssig zu bleiben.

Ich sammelte je 3—4 ccm arteriösen (Arteria axillaris) Taubenblutes in einigen Probierringläschen von ca. 8 ccm Inhalt und zentrifugierte etwa 8—10 Minuten lang, wobei die Blutsäule sich in einen oberen plasmatischen und in einen unteren morphologischen Teil schied. An der Grenzlinie zwischen beiden sammelt sich eine dünne, weißliche Schicht (Zwischenschicht), die vorzugsweise aus Leukocyten und Blutplättchen besteht. Mittels einer Pipette wurde das Plasma angesogen, und, um es besser von Blutkörperchen zu befreien, einer zweiten ebenso lang dauernden Zentrifugierung unterworfen.

Durch dieses Verfahren stand mir flüssiges, reines, stabiles Blut, ferner relativ plasmafreies Blut und dann reines Blutplasma zur Verfügung. Wenn ich das Serum prüfen wollte, sammelte ich das Blut in paraffinierten Probierringläschen, da ich fand, daß nur auf diese Weise das direkt der Blutbahn entnommene Vogelblut einer Blutgerinnnseauspressung entgeht.

Wie allgemein angenommen wird und ich selbst bewiesen habe³⁾, besitzen die erwachsenen Tauben eine relativ natürliche Immunität gegen Milzbrand. Unter 42 von mir subkutan geimpften Tieren starben 9, d. h. 21 Proz., während bei den früheren Versuchen die Sterblichkeit ein wenig höher war (29,5 Proz.).

Jene Tauben, welche die erste Impfung überstanden, wurden von mir als für Milzbrand völlig unempfindlich konstatiert; sie besitzen dann eine absolute erworbene Immunität.

Die nach der ersten Impfung auftretende lokale Reaktion ist gewöhnlich sehr stark und andauernd, während die späteren hingegen eine auffallend weniger starke, kurzdauernde und von allen Versuchstieren leicht ertragene Reaktion hervorrufen. Das will sagen, daß auch die natürlich refraktären Individuen, d. h. diejenigen, welche die erste Impfung siegreich ertragen, im normalen Zustande einen höheren Empfindlichkeitsgrad als ein immunisiertes Individuum besitzen.

Durch die Untersuchungen von Canalis und Morpurgo⁴⁾, die ich mit demselben Resultate wiederholte, wissen wir, daß alle geimpften und zugleich ausgehungerten Tauben an Milzbrand sterben.

1) Delezenne, Arch. de phys. norm. et pathol. 1897.

2) Spangaro, Archivio per le scienze mediche. Vol. XXIV.

3) Spangaro, Contributo sperimentale alla conoscenza dell'immunità e dell'immunizzazione. (Gazzetta degli ospedali. 1897. No. 103.)

4) Canalis e Morpurgo, Intorno all'influenza del digiuno sulla disposizione alle malattie infettive. Roma 1890.

Wird derselbe Versuch mit schon einmal oder mehrmals geimpften Tauben wiederholt, so stirbt keine an Milzbrand, sondern verhungert [Spangaro, l. c.³].

Das beweist, daß, wenigstens bei Tauben und bei Milzbrand, ein großer Unterschied zwischen natürlicher und erworbener Immunität besteht; die letztere scheint widerstandsfähiger und stabiler zu sein.

Diese Ergebnisse führten mich dazu, die bakterientötende Kraft des Blutes von normalen und von immunisierten Tauben zu vergleichen.

Die Wirkung der verschiedenen Flüssigkeiten (reines Blut — plasmafreies Blut — Blutplasma — Serum) wurde durch Einsaat eines Tropfens 1- oder 2-tägiger Bouillonaufschwemmung und mit den gewöhnlichen Plattenmethoden geprüft. Nachdem ich dem Plasma jede schädliche Wirkung auf die Bacillen aberkennen mußte, benutzte ich es manchmal, um die durch zentrifugierte Aufschwemmung erhaltenen Bacillen darin zu suspendieren.

Ich beschränke mich darauf, die Ergebnisse meiner Untersuchungen kurz bekannt zu geben und behalte mir weitere Mitteilungen für eine spätere Arbeit vor.

Was das Verhalten des Blutes außerhalb des Organismus betrifft, liegen folgende Resultate vor:

Sowohl das venöse als das arteriöse, direkt mittels eines Glasröhrchens der Blutbahn entnommene Taubenblut bleibt lange Zeit flüssig, stunden- und tagelang (s. Tabelle 3), während es, in Berührung mit der Wunde des Tieres gebracht, fast sogleich gerinnt (binnen 1 bis 2 Minuten).

Die Frist bis zum Gerinnen des Blutes ist nicht nur zwischen den einzelnen Tieren, sondern auch bei den ein und demselben Tiere entnommenen Proben verschieden.

Die Raumtemperatur hat auf den Eintritt der Koagulation Einfluß; die höhere im Sommer begünstigt sie.

Durch wiederholtes Zentrifugieren bekommt man ein natürliches, reines, stabiles Plasma, das entweder bedeutend später als der entsprechende morphologische Teil des Blutes, gerade wie das reine Blut auch, oder gar nicht gerinnt (s. Tabelle 1, 3).

Das plasmafreie Blut gerinnt später als das reine (s. Tabellen).

Die Retraktion des Gerinnsels und die folgende Serumausscheidung findet nur bei jenen Blutproben statt, die entweder mit der Wunde in Berührung gekommen sind oder die in mit Paraffinbelag versehenen Gläschen gehalten werden.

Wenn dem Serum 1 oder 2 Tropfen reines Blut beigemischt werden, so bildet sich allmählich ein gallertartiges Gerinnsel.

Was die bakterizide Wirkung des Taubenblutes betrifft, gelangte ich zu folgenden Resultaten:

Ich konnte mich nicht davon überzeugen, daß der flüssige Teil des Blutes (Plasma und Serum) normaler Tauben (relativ immuner Tiere) eine nachweisbar bakterientötende Wirkung habe (s. Tabellen).

Das Plasma übt in der ersten Zeit einen hemmenden Einfluß auf die Vermehrung der Bacillen aus, welche im Serum früher anfängt (s. Tabellen).

Im morphologischen Teile des Blutes kann dagegen eine auffallende bakterizide Wirkung nachgewiesen werden, die sich um so stärker erweist, je geringer die Plasmamenge ist (s. Tabellen).

Tabelle 1. Normale Taube. Arteriöses Blut. Es wurden ca. 30 ccm Blut entnommen.

1. Reines Blut	2. Reines Blut	3. Reines Blut	4. Plasma-freies Blut	5. Plasma-freies Blut	6. Plasma-freies Blut	7. Plasma von No. 4	8. Plasma von No. 5	9. Plasma von No. 6	10. Serum (aus in paraff. Gefäße gehaltenem Blute), 90' nach d. Gerinnung ausgeschieden	11. Serum wie No. 10, aber 3-5 Std. nach dem Gerinnen ausgeschieden	
Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Mit 1 Tropfen Bouillonkultur infiziert	Infiziert wie nebenstehend	
36 Std. flüssig	16 Std. flüssig	15 Std. flüssig	37 Std. flüssig	5 Std. flüssig	6 Std. flüssig	über 6 Tage flüssig	24 Std. flüssig	16 Std. flüssig			
Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.											
—	nach 15' 3008 " 90' 2425 " nach 4 Std. 154 " nach 16 Std. 170 " nach 26 Std. 38 " nach 2 Tagen 71	nach 12' 3528 " 90' 462 " nach 5 Std. 75	—	nach 14' 2950 " 2 St. 520 " nach 5 Std. 75	nach 14' 2950 " 2 St. 520 " nach 5 Std. 75	—	nach 18' 4091 " 5 St. 4664 " nach 18 Std. 4709 " nach 23 Std. 6450	nach 20' 3695 " 5 St. 3701	nach 5' 2500 " 60' 2700 " nach 2 Std. 2800 " nach 6 Std. 6680 " nach 18 Std. mehr als 20 000	nach 6' 2750 " 2 St. 3800 " nach 10 Std. 8900 " nach 36 Std. ∞	

Tabelle 2. Normale Taube. Arteriöses Blut. Es werden ca. 35 ccm Blut entnommen.

1. Reines Blut	2. Reines Blut	3. Reines Blut	4. Plasma-freies Blut	5. Plasma-freies Blut	6. Plasma-freies Blut	7. Plasma-freies Blut	8. Plasma von No. 4	9. Plasma von No. 5	10. Plasma von No. 6	11. Plasma von No. 7	
Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	
10 Std. flüssig	4 Std. flüssig	12 Std. flüssig	6 Std. flüssig	4 Std. flüssig	3 Std. flüssig	26 Std. flüssig	30 Std. flüssig	15 Std. flüssig	15 Std. flüssig	24 Std. flüssig	
Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.											
—	nach 7' 4653 " 60' 1321 " nach 2 Std. 120	nach 10' 4426 " 45' 1656 " nach 3 Std. 1940 " nach 10 Std. 120	—	nach 12' 4629 " 50' 2047 " nach 2 Std. 125	nach 14' 4720 " 55' 3200 " nach 2 Std. 186	nach 14' 3800 " 60' 690 " nach 6 Std. 57	—	nach 19' 6137 " 30' 6080 " nach 4 Std. 7238 " nach 10 Std. 8815 " nach 10 Std. 10 600 " nach 10 Std. 2550	nach 21' 6029 " 40' 6132 " nach 8 Std. 6220 " nach 10 Std. 10 600 " nach 20 St. mehr als 30 000	nach 23' 5970 " 50' 6100 " nach 4 Std. 6220 " nach 10 Std. 10 600 " nach 20 St. mehr als 30 000	

Tabelle 3. Normale Taube. Arteriöses Blut. Es wurden ca. 35 ccm Blut entnommen.

1. Reines Blut	2. Reines Blut	3. Plasma-freies Blut	4. Plasma-freies Blut	5. Plasma-freies Blut	6. Plasma-freies Blut	7. Plasma	8. Plasma	9. Plasma	10. Serum A, aus defibrinirtem Blute erhalten	11. Serum B (wie Serum A)
Nicht infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert
nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	nach 6 Tagen noch flüssig	Am 2. Tage gerinnt es im Thermostaten nach 3 Std.	Der Zusatz eines Tropfens Plasma erzeugt eine langsame, gallertartige Gerinnung	(wie bei A)

Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.

—	nach 7' 2091	—	nach 5' 1795	nach 10' 1690	nach 3' 660	—	nach 12' 1830	nach 14' 1890	nach 5' 708	nach 6' 915
nach 35' 180	" 35' 180	—	" 45' 189	" 6 Std. 58	" 1 Std. 14	—	" 30' 1970	" 1 St. 2050	nach 1 Std. 108	n. 1 St. 96
nach 1 Std. 42	" 1 Std. 42	—	" 1 Std. 2	" 1 Tage 3	" 6 " 0	—	" 6 St. 2236	" 1 Tg. 6471	" 2 " 4	" 2 " 4
nach 6 Std.	nach 6 Std.	—	nach 6 Std.	nach 2 Tagen	nach 26 Std.	—	nach 30 Std.	nach 3 Tagen	" 2 " 4	" 2 " 4
nach 20 Std.	nach 20 Std.	—	nach 20 Std.	nach 2 Tagen	nach 26 Std.	—	3240	16500	" 2 " 4	" 2 " 4
nach 30 Std.	nach 30 Std.	—	nach 30 Std.	nach 6 Tagen	nach 6 Tagen	—	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	" 2 " 4	" 2 " 4
nach 6 Tagen	nach 6 Tagen	—	nach 6 Tagen	nach 6 Tagen	nach 6 Tagen	—	5676	∞	" 2 " 4	" 2 " 4
nach 0	nach 0	—	nach 0	nach 0	nach 0	—	∞	∞	" 2 " 4	" 2 " 4

Tabelle 4. Immunisierte Taube No. 53. Arteriöses Blut. Es wurden ca. 30 ccm Blut entnommen.

1. Reines Blut	2. Plasma-freies Blut	3. Plasma-freies Blut	4. Plasma-freies Blut	5. Plasma von No. 2	6. Plasma von No. 3	7. Plasma von No. 5	8. Serum aus in paraffiniertem Gefäße gehaltenem Blute
Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Nicht infiziert	Infiziert	Infiziert	Gleichzeitig m. No. 1 mit 1 Tropfen Bouillonkultur infiziert
14 Std. flüssig	15 Std. flüssig	13 Std. flüssig	13 Std. flüssig	18 Std. flüssig	13 Std. flüssig	3 Std. flüssig	
nach 10' 2	nach 20' 9	nach 20' 9	nach 35' 7	nach 35' 7	nach 48' 285	nach 48' 285	nach 5' 2948
nach 40' 0	nach 45' 0	nach 45' 0	nach 50' 1	nach 50' 1	nach 90' 280	nach 2 Std. 42	nach 30' 2680
nach 2 Std. 0	nach 3 Std. 0	nach 3 Std. 0	nach 2 Std. 0	nach 2 Std. 0	nach 12 Std. ∞	nach 12 Std. ∞	nach 12 Std. ∞
nach 12 " 0	nach 12 " 0	nach 12 " 0	nach 12 " 0	nach 12 " 0			

Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.

Tabelle 5.
Immunierte Taube No. 54. Arteriöses Blut. Es wurden ca. 28 ccm Blut entnommen.

1. Plasmafreies Blut	2. Plasmafreies Blut, ohne die sogenannte Zwischenschicht	3. Plasma mit 2 Tropfen Blut der sogenannten Zwischenschicht	4. Mischung gleicher Teile Plasma und reines Blut	5. Plasma von No. 1	6. Plasmafreies Blut, ohne die sogenannte Zwischenschicht	7. Serum A, aus in paraffiniertem Gefäß gehaltenem Blute
Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert mit 1 Tropfen Bouillonkultur 2 Std. nach Entnahme d. Blutes	Infiziert mit 1 Tropfen Bouillonkultur zugleich mit No. 6
36 Std. flüssig	36 Std. flüssig	8 Std. flüssig	8 Std. flüssig	4 Std. flüssig		
nach 15' 112	nach 10' 249	Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.	nach 25' 14	nach 30' 220	nach 5' 3150	nach 7' 3010
" 1 Std. 3	" 35' 76	nach 19' 158	nach 1 Std. 2	nach 1 Std. 125	" 20' 2980	" 22' 2100
" 6 " 0	nach 1 Std. 35	" 45' 29	" 2 " 0		nach 1 Std. 2500	nach 1 Std. 2940
nach 24 Std. 0	nach 7 " 12	" 90' 3	" 7 " 0		" 7 " 150	nach 7 Std. mehr als als 10 000
	nach 34 Std. 1800	nach 7 Std. 2 ¹)			" 32 " ∞	nach 32 Std. ∞

1) Ein Meerschweinchen, dem 0,5 ccm solches Blut unter die Haut gespritzt wird, überlebt die Impfung.

Tabelle 6.
Immunierte Taube No. 45. Arteriöses Blut. Es werden ca. 32 ccm Blut entzogen.

1. Reines Blut	2. Reines Blut	3. Plasmafreies Blut	4. Plasmafreies Blut. Die sogen. Zwischen-schicht größtenteils entfernt	5. Plasmafreies Blut	6. Wenig zentri-fugiertes Plasma	7. Plasma mit 2 Tropfen reinen Blutes	8. Plasma mit 2 Tropfen des Zwischen-schichtblutes	9. Plasma mit 1 Tropfen des Zwischen-schichtblutes	10. Reines Plasma	11. Serum aus 12. Serum wie das vorige mit 1 Tropfen reinen Blutes Blutgerinnsel
Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert wie vorhergehende Nummer
bleibt 36 Std. flüssig	bleibt ca. 20 Std. flüssig	bleibt 5 Std. flüssig	bleibt 4 Std. flüssig	bleibt 4 Std. flüssig	bleibt 18 Std. flüssig	bleibt 18 Std. flüssig	bleibt 36 Std. flüssig	bleibt 22 Std. flüssig	bleibt 18 Std. flüssig	

Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.

nach 3'	nach 6'	nach 13'	nach 17'	nach 20' nach 35'	nach 30'	nach 25'	nach 23'	nach 5'	nach 7'
8/8	1250	860	750	4015	1440	1025	3960	3010	2850
nach 1 Std.	nach 32'	nach 45'	nach 1 Std.	nach 1 Std.	nach 1 Std.	nach 1 Std.	nach 1 Std.	nach 30'	nach 30'
530	250	150	425	3185	1100	920	4025	2800	975
nach 3 Std.	nach 2 Std.	nach 2 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 3 Std.	nach 3 Std.	nach 3 Std.	nach 1 Std.	nach 1 Std.
225	30' 6	10' 28	40' 50	2340	825	25	4175	3350	566
nach 7 Std.			nach 9 Std.	nach 9 Std.	nach 9 Std.	nach 9 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.	nach 4 Std.
23			1050	67	500	97	4000	5400	Neigung zur Gerinnung 1500

Tabelle 7.
Immunierte Taube No. 42. Arteriöses Blut. Es wurden ca. 28 ccm Blut entzogen.

1. Reines Blut	2. Plasmafreies Blut	3. Defibriniertes Blut (durch Schütteln)	4. Defibriniertes und größtentheils vom Serum befreites Blut	5. Serum aus defibriniertem Blut	6. Serum aus defibriniertem Blut mit 2 Tropfen defibriniertem Blut	7. Serum aus defibriniertem Blut mit 2 Tropfen plasmafreiem Blut
Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert	Infiziert
1 Stunde nach der Entnahme zeigt das Blut Neigung zum Gerinnen	Wie bei No. 1					
nach 20' 350	nach 18' 410	nach 15' 400	nach 7' 975	nach 10' 750	nach 12' 1040	nach 15' 520
nach 4 Std. 1) 150	nach 3 Std. 1) 73	" 30' 430	" 30' 460	nach 1 Std. 306	nach 1 Std. 420	nach 1 Std. Neigung zur Gerinnung, 300
" 6 " 107	" 6 " 23	nach 4 Std. 180	nach 5 Std. 150	" 5 " 51	" 5 " 35	nach 5 Std. 60
" 2 Tagen 3	" 5 Tagen 0	" 8 " 56	" 8 " 23	" 8 " 15	" 8 " 6	" 8 " 12
		" 24 " 0	" 24 " 0	" 24 " 0	" 24 " 0	" 24 " 0

Anzahl der in den betreffenden Proben entwickelten Kolonien.

1) Durch starkes Schütteln das beinahe geronnene Blut wieder verflüssigt.

In der Tat zeigt sich beim plasmafreien Blute ein intensiveres und schnelleres Verschwinden der Bacillen als im reinen Blute. Eine größere Plasmamenge scheint also die bakterientötende Wirkung abzuschwächen, welche einem gegebenen Blute innewohnt.

Eine solche bakterizide Kraft des Taubenblutes ist, wenn sie auch bei den einzelnen Tieren verschieden sein kann, doch stets nachweisbar.

Das venöse Blut besitzt dem arteriösen analoge bakterienvernichtende Eigenschaften, doch konnte ich nicht feststellen, ob sie beiden gleich kräftig innewohnen.

Zentrifugiert man reines Blut 1 oder 2 Stunden nach der Entnahme und trennt man den morphologischen vom plasmatischen Teil, so besitzt der erstere noch bakterientötende Kraft, die dem letzteren von Anfang an fehlt; mit anderen Worten: das andauernde Zusammenbleiben des Plasmas mit den anderen Blutbestandteilen *in vitro* kann dem Plasma keine bakterizide Kraft verleihen.

Zu demselben Resultate gelangt man durch sofortiges Zentrifugieren, auch wenn ein 1- oder 2-stündiges späteres Beisammenlassen der zwei genannten Blutbestandteile.

Solange sich das Blut flüssig erhält, besitzt es eine stark bakterizide Wirkung, auch wenn diese erst einige Zeit nach der Blutentnahme geprüft wird (s. Tabellen 3, 4 u. 5).

Dem Serum und dem Plasma, die an und für sich keine bakterientötende Kraft besitzen, kann diese durch Zusatz von 1—2 Tropfen reinen Blutes verliehen werden (s. Tabelle 5).

Diese zeigt sich um so auffallender, in je größerer Menge die morphologischen Bestandteile zugesetzt werden und je reichlicher das gleiche Blutquantum an Leukocyten ist, z. B. wenn man Blut der sogenannten Zwischenschicht hinzufügt.

Im Gegensatz zum spontan aus dem Blutgerinnsel ausgeschiedenen Serum besitzt jenes des defibrinierten Blutes eine bedeutende bakterizide Kraft. Bei diesem Blute hat die Anwesenheit oder der Zusatz von Blutkörperchen keinen Einfluß auf die bakterientötende Wirkung desselben, die es schon allein zu entwickeln vermag (s. Tabelle 7).

Die größere oder geringere Menge der im Blute eine gewisse Zeit nach der Einsaat mikroskopisch nachweisbaren Bacillen steht in Uebereinstimmung mit den durch Plattenversuch gefundenen.

Der Verminderung der Bacillenmenge im Blute entspricht eine mikroskopisch nachweisbare Vernichtung derselben, die durch bakteriolytische Erscheinungen entsteht. In den nach Gram-Loeffler oder nach Turro gefärbten Präparaten begegnet man Bacillen, die nicht, wie gewöhnlich, durchweg die violette Farbe angenommen haben, sondern nur teilweise in Form von Klumpen oder Körnchen verschiedener Größe. Anderswo sind die Bacillen farblos geblieben oder je nach der angewandten Methode durch Eosin rot gefärbt. In derselben Bacillenkette sind manchmal alle verschiedenen Degenerationsstufen wahrnehmbar.

In den ersten Stunden nach der Einsaat nimmt die Zahl der mikroskopisch nachweisbaren Bacillen progressiv ab, während sie im Plasma und im Serum unverändert bleiben; demzufolge trifft man die Bacillen im Blute als kurze, teilweise degenerierte Ketten, im Plasma und Serum als lange und guterhaltene.

Mit dem Blute immunisierter Tauben gelangt man zu demselben Resultate wie mit dem Blute der normalen Tauben. Plasma und Serum

zeigen keine sicher nachweisbare bakterizide Wirkung, hingegen besitzt reines und plasmafreies Blut eine kräftige.

Der Unterschied zwischen dem Blute normaler und immunisierter Tauben besteht bloß in der Intensität der bakteriziden Wirkung, welche bei letzteren stärker und weniger schwankend ist als bei ersteren (s. Tabellen).

Es kommt vor, daß in 2—3 Stunden eine große Menge Bacillen im reinen oder plasmafreien Blute vollständig vernichtet werden (s. Tabelle 4).

Die Abnahme der Bacillen entspricht einer tatsächlichen Vernichtung derselben. Wird einem Meerschweinchen 1 ccm selbst mehrere Stunden früher keimbesätes Blut injiziert, so überlebt es den Eingriff, wenn die Platten ein negatives Resultat zeigen, und stirbt, wenn sie ein positives Resultat ergeben.

Manchmal konnte man übrigens nachweisen, daß gerade vor der Impfung das Blut noch einige Bacillen enthielt, trotzdem ging das Meerschweinchen nicht zu Grunde, wie wenn entweder dem Absterben der Bacillen eine Abnahme ihrer Virulenz voranginge oder die Meerschweinchen fähig wären, eine begrenzte Anzahl Milzbrandbacillen unschädlich zu machen, sobald sie unter den von mir befolgten Maßnahmen (langdauernde Suspension der Bacillen im Taubenblute) injiziert werden.

Alle Meerschweinchen starben ausnahmslos an Milzbrand, wenn ihnen mit Bacillen besätes Plasma oder Serum eingespritzt wurde, was beweist, daß diese Blutbestandteile allein keine schädigende Wirkung auf die Virulenz der Keime auszuüben vermögen.

Zur teilweisen Illustrierung des Vorstehenden will ich die Ergebnisse einiger Untersuchungen folgen lassen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bereitung des trockenen Antirinderpestserums.

Von

E. Dschunkowsky,
Chef der Antirinderpeststation
in Surnabad.

und

Mag. pharm. J. Kupzis,
Assistent des militär-medizinischen
Laboratoriums in Tiflis.

Die Hauptaufgaben der Serumtherapie bestehen jetzt in der Erhaltung eines wirksamen Serums, während der Befreiung der wirksamen Substanz von den indifferenten Stoffen vorläufig noch weniger Aufmerksamkeit geschenkt wird. Es unterliegt keinem Zweifel, daß mit den Präparaten der Organo- und Serumtherapie dem kranken Organismus eine bedeutende Menge unnützer Stoffe zugeführt wird. Sind die Präparate steril, so richtet dieser unnütze Ballast zwar keinen Schaden an, abgesehen von den Unbequemlichkeiten, die der Kranke beim Injizieren größerer Mengen von Flüssigkeiten zu spüren hat. Sobald aber die Sterilität des Serums verletzt ist, zersetzen sich bald seine Eiweißkörper, wobei giftige Zersetzungsprodukte entstehen, welche das Serum schon unbrauchbar machen. Zu solchen gefährlichen Körpern, welche bei der Zersetzung der Eiweißstoffe gebildet werden, gehören: Neurin, Pentamethylendiamin und Toxine einiger Bakterien. Auf solche Weise verringert der unnütze Ballast der Sera ihre Haltbarkeit, und wenn Sera

gegen seltener vorkommende Krankheiten so langsam sich einbürgern, so haben wir es fast ausschließlich ihrer geringen Haltbarkeit zu verdanken. Wenn es schon schwierig ist, ein Serum in kleinen Mengen steril zu erhalten, so ist gar nicht daran zu denken, diese Methode für die Gewinnung des Antirinderpestserums anzuwenden, denn hier muß man nicht kleine Ampullen füllen, sondern einige Hundert Liter für einen einzigen Pestpunkt. (In Transkaukasien sind seit dem Sommer 1902 über 300 000 Rinder immunisiert worden.) Um die Haltbarkeit der Sera zu erhöhen, fing man an, ihnen einige Konservierungsmittel, wie Karbolsäure, Kresole etc., hinzuzufügen, welche die Brauchbarkeit der Sera verlängern, die Zersetzung aber doch nicht beseitigen. Nach einiger Zeit wird ein so beschicktes Serum doch trübe, und später bildet sich in ihm ein bedeutender Bodensatz, denn die Phenole geben mit den Eiweißstoffen Verbindungen.

Alle oben bezeichneten Umstände nötigen, die ursprünglichen Sera zu verändern. Solche Veränderung muß bestehen 1) in der Erhaltung eines Serums mit möglichst großer Menge von Antikörpern in einer geringen Flüssigkeitsmenge, 2) in der Entfernung des Wassers, als der Hauptzersetzungquelle aus dem Serum, und 3) in der Isolierung der Antikörper. Die Darstellung sehr konzentrierter Sera, wie z. B. des Diphtherieserums, ist schon erreicht, und man kann dadurch leichter bei allen Arbeiten mit dem Serum die Sterilität durchführen und dem Diphtheriekranken die Unbequemlichkeit beseitigen, welche er bei der Einspritzung großer Mengen eines schwächeren Präparates spürte. Die Gefahr durch die Zersetzungsprodukte der Eiweißstoffe ist aber noch nicht in den konzentrierten Präparaten beseitigt. Solange man noch nicht die wirksamen Substanzen aus den Sera in reinem Zustande isoliert und in unbegrenzt haltbarer Form dargestellt hat, muß man den Sera, aus welchen das Wasser entfernt ist, noch alle Aufmerksamkeit schenken, denn in wässriger Lösung zersetzen sich Eiweißstoffe rasch, während getrocknete Eiweißstoffe sehr lange haltbar sind. Zwar sind trockene Sera, z. B. das Diphtherieserum, bekannt, aber in der Praxis ist in größerem Maßstabe, wie bei unseren Versuchen mit dem trockenen Rinderpestserum, bis jetzt noch kein Serum angewandt worden. Um erfolgreich gegen die Rinderpest in Transkaukasien kämpfen zu können, war es unbedingt nötig, ein Präparat zu bereiten, das haltbar und leicht transportabel ist, denn der Transport größerer Mengen flüssigen Serums auf die fast unzugänglichen Alpenwiesen ist mit vielen Kosten und Schwierigkeiten verknüpft. Ein solches Präparat verspricht das trockene Serum zu sein.

Als Ausgangsmaterial bei der Bereitung des trockenen Rinderpestserums diente das flüssige Serum, welches in der Antirinderpeststation zu Surnabad nach der Peritonealmethode, ausgearbeitet von E. Dschunkowsky¹⁾ und M. Tartakowsky, gewonnen wird. Beim Austrocknen des Serums durften wir es nicht außer acht lassen, daß die Bereitung bei einer solchen Temperatur geschehen muß, bei welcher die Eiweißstoffe nicht koagulieren. Die Bestimmung des Gerinnungspunktes des Serums dreier Ochsen gab folgende Resultate: Im Dampfbade rasch erwärmt, fingen alle Serumproben an, zwischen 57—58° C zu gerinnen. Der größte Teil der Eiweißkörper koagulierte jedoch zwischen 68—72°. Bei langsamem, aber andauerndem Erwärmen wurden

1) Arbeiten des ersten russischen Veterinärkongresses zu Petersburg.

andere Zahlen erzielt. Die filtrierten Sera wurden in einen Thermostaten gestellt und allmählich erwärmt. Die Temperatur von $51,5^{\circ}$ rief im Laufe von 5 Stunden keine Gerinnung hervor. Im Serum No. 1 entstanden nach 5 Stunden bei 52° Flocken. Die Serumprobe No. 2 begann bei $53,5^{\circ}$ nach 4 Stunden zu gerinnen, und im 3. Serum zeigten sich Flocken erst von 54° nach 3 Stunden. Den Unterschied in den Gerinnungspunkten ($52, 53,5, 54^{\circ}$) muß man sehr wahrscheinlich in der ungleichen Menge im Serum gelöster Salze suchen. Wie bekannt, koaguliert das Serumalbumin im destillierten Wasser schon bei 50° . Die Gegenwart von Salzen erhöht jedoch den Gerinnungspunkt. Eine 5-proz. Chlornatriumlösung bewirkt die Koagulation erst bei 75° . Das Trocknen des Serums im Vakuum gab keinen günstigen Erfolg, weil es stark schäumt und das Wasser sehr langsam verdunstet. Besser gelang uns das Austrocknen in flachen Schalen, auf welche die Flüssigkeit in 3–5 mm dicken Schichten gegossen wurde. Die Temperatur schwankte zwischen $28\text{--}32^{\circ}$ C. Um 1 l Serum bei dieser Temperatur in dünnen Schichten auszutrocknen, sind 18–20 Stunden erforderlich. Die Ausbeute des trockenen Präparates aus 1 l flüssigen Serums war folgende: 1) Aus einem Serumgemische von 72 Ochsen 104,1 g, 2) von 46 Ochsen 102,6 g, und 3) von 24 Ochsen 108,6 g. Im Durchschnitte erhielten wir aus dem Serumgemische von 142 Ochsen in 1 l 105,1 g getrocknetes Präparat. Das trockene Serum bildet dünne, durchscheinende, hellbraune Platten, welche in 4–6 Teilen Wasser beim öfteren Umschütteln in 25–35 Minuten sich lösen. Gepulvertes Serum, mit gleicher Wassermenge übergossen, gibt auch eine Lösung, aber erst nach längerer Zeit. Eine große Unbequemlichkeit bei der Gewinnung des trockenen Präparates besteht darin, daß das Serum fest am Glase anhaftet und beim Abschaben mit einem scharfen Instrumente sich sehr stark zertreibt. Diese Unbequemlichkeit wird leicht beseitigt, wenn man vor dem Trocknen dem Serum geringe Mengen Aetznatron hinzufügt. Dadurch löst sich das trockene Serum von selbst vom Glase ab und hebt sich nach oben, infolgedessen es auch rascher trocknet, da die Ausdünstung des Wassers nun auch von der unteren Seite geschehen kann. Der Aetznatronzusatz bewirkt auch ein rascheres Auflösen des trockenen Präparates und gibt mehr durchsichtigere und hellere Lösungen. Experimentell stellten wir fest, daß sehr gute Resultate erhalten werden, wenn man 0,2 Proz. Aetznatron, vorher in zehnfacher Wassermenge gelöst, dem Serum vor dem Austrocknen zusetzt. Ein Laugeüberschuß ist jedoch zu vermeiden, weil er die Löslichkeit beeinflusst. Bei einem Gehalte von $\frac{1}{2}$ Proz. Natronhydrat wird das Serum dick, gallertartig, und nach dem Austrocknen löst es sich erst dann, wenn man eine größere Menge Lauge hinzufügt.

Das sowohl mit als auch ohne Natronhydrat getrocknete Serum löst sich nicht ganz vollkommen klar im Wasser auf. Es bleibt ein geringer, unlöslicher Niederschlag. 100 ccm Serum (= 10,51 trockenes Serum) ohne Lauge getrocknet, geben beim Auflösen 0,101 g unlöslichen Niederschlag. Bei derselben Menge alkalischen Serums ist der unlösliche Teil 0,068 g. Das bei $28\text{--}32^{\circ}$ getrocknete Serum, über Schwefelsäure im Exsikkator aufbewahrt, verliert noch bedeutend an Gewicht. Nach 24 Stunden war eine Gewichtsabnahme von 6,2 Proz. vorhanden. Der größte Gewichtsverlust 7,28 Proz. wurde erreicht nach 3 Tage langer Aufbewahrung. Der Wasserverlust vermehrt den unlöslichen Teil, welcher im Serum ohne Aetznatron von 101 mg auf 126 und im alkalischen

von 68 mg auf 94 stieg. Außerdem löst sich das über Schwefelsäure getrocknete Serum auch langsamer auf. Am meisten verliert das zwischen 28—32° getrocknete Serum an Gewicht, wenn man es bei 100° trocknet. Bei natronhydrathaltigem Serum war eine Gewichtsabnahme von 11,7 Proz. und im neutralen Serum 11,41 Proz. zu konstatieren. Ungeachtet dessen, daß wir die beiden letzten Sera 6 Stunden bei 100° trockneten, blieben sie doch im Wasser löslich, während das flüssige Serum, bei 75° erwärmt, vollständig koagulierte und ganz unlöslich wurde. Unser bei 100° getrocknetes Serum gab bloß einen etwas vermehrten Niederschlag, 100 ccm alkalischen Serums, zuerst bei 28—32° und nachher 6 Stunden bei 100° getrocknet, hinterließen beim Auflösen im Wasser 0,5 g Unlösliches; beim Serum ohne Alkalienszusatz betrug der unlösliche Teil 0,38 g.

Fassen wir oben Gesagtes zusammen, so erhalten wir folgendes: Man kann ein haltbares, trockenes, leicht transportables Antirinderpestserum bereiten durch Austrocknen des flüssigen Serums in dünnen Schichten auf Glasplatten, wobei dem flüssigen Serum vor dem Trocknen $\frac{1}{5}$ Proz. Natronhydrat zugesetzt werden muß. Die Ausbeute des trockenen Präparates beträgt durchschnittlich 10,5 Proz. Auf solche Weise bereitetes trockenes Präparat löst sich rasch im Wasser auf, bloß einen unbedeutenden unlöslichen Teil hinterlassend. Bei intensiverer Wasserentziehung vermehrt sich der unlösliche Teil, aber die Löslichkeit wird nicht vernichtet, auch dann nicht, wenn das Präparat längere Zeit einer Temperatur von 100° unterworfen wird.

Die Wirkung des auf oben beschriebener Art erhaltenen Präparates war auch nötig in der Praxis zu prüfen, wobei man besondere Aufmerksamkeit den Verhältnissen schenken muß, wie sie dem Tierarzte in den Pestorten vorkommen. Massenversuche in dieser Richtung werden sowohl in Surnabad als auch in den Pestpunkten angestellt, wobei man einen Unterschied in der Wirkung des bei 28—32° getrockneten Präparates und des flüssigen Serums bis jetzt noch nicht beobachten kann. Ausführlichere Mitteilungen darüber werden seiner Zeit mitgeteilt werden.

Dem Direktor des militär-medizinischen Laboratoriums, Herrn Dr. M. V. Lunke witsch, sprechen wir für die Förderung dieser Arbeit unseren besten Dank aus.

Nachdruck verboten.

Ueber Serumgewinnung gegen Schweineseuche und Schweinepest.

[Arbeit aus dem bakteriologischen Institute des Prof. Dr. J. Hlava in Prag.]

Von Tierarzt **M. Prettnner.**

Die von manchen Seiten angegebene wechselseitige Immunisationskraft des *Bac. suisepiticus* und *Bac. suispestifer* wurde experimentell nicht streng erwiesen, aber auch nicht widerlegt. Diese Angaben, welche auch für die Annahme der Identität beider Bacillen benutzt wurden, welche aber schon widerlegt ist, sind wichtig für den

Immunitätsvorgang behufs Serumgewinnung, und wurden in dieser Beziehung auch schon teilweise ausgenützt. Schreiber liefert den Beweis, daß ein Tier, welches gegen den *Bac. suisepiticus* immunisiert wurde, nicht immun ist gegen den *Bac. suisepitifer* und umgekehrt.

Dagegen ist es möglich, nach ihm gegen beide Bacillen gleichzeitig zu immunisieren mit seinem Septicidin, welches ein polyvalentes Serum aus verschiedenen hochvirulenten Stämmen des *Bac. suisepiticus*, *suisepitifer* und *suisepiticus* ist, und gleichzeitig gegen Schweineseuche und Pest schützt.

Schreiber verdoppelt die Wirkung des Pferdeserums gegen Schweineseuche dadurch, daß er es mit einem Immunserum vom Hunde vermischt, welcher gegen die gleichen Bakterien immunisiert worden war. Osterreich und Wassermann dagegen haben ihr polyvalentes Serum gegen Schweineseuche eingeführt nach dem Prinzip, daß ein Serum, welches mit Schweineseuchestamm A gewonnen war, stets nur gegen Stamm A nicht aber gegen Stamm B schützt. Heutzutage werden hauptsächlich diese zwei Serumarten in der Praxis benützt. Das Serum von Osterreich und Wassermann ist streng spezifisch, hergestellt durch Immunisation mit verschiedenen Stämmen der Bakterien, um auch die Kraft gegen verschiedene Stämme zu gewinnen. Dagegen ist das Serum vom Schreiber durch die Immunisation mit verschiedenen Bakterien derselben Gruppe hergestellt, und es wird besonders die Verbindung zweierlei Arten von Sera verschiedener Tiere (Pferde, Hunde) als ein praktisch sehr gut verwertbare Tatsache hervorgehoben.

Die wechselseitige Immunisation mit dem *Bac. suisepiticus* et *suisepitifer* und die Bestimmung des Wertes des von so immunisierten Tieren gewonnenen Serums war die Aufgabe dieser meiner Versuche.

Als Serumlieferanten wurden Hunde, als Prüfungstiere der Wertigkeit des Serums wurden weiße Mäuse benützt.

Weiterhin habe ich besonders die Idee der Verbindung freier Serumarten von derselben Tiergattung durch die beiden Bakterien *Bac. suisepiticus* und *Bac. suisepitifer* immunisiert, näher verfolgt.

Es schien mir angezeigt, das Serum von gleichen Tierarten, welche gegen die eine oder die andere Art immunisiert wurden, miteinander zu verbinden.

Bei Injektion der Heil- sowie Schutzseris handelt es sich hauptsächlich um die Ausnützung der verschiedenen Komplemente in dem Tierkörper (Vielheit der Komplemente nach Ehrlich).

Es ist anzunehmen, daß durch Immunisierung mit 2 artgleichen Bakterien bei 2 Individuen derselben Tiergattung verschiedene, aber artgleiche Immunkörper aus dem Organismus gewonnen werden, welche sich mit verschiedenen passenden Komplementen im Tierkörper binden werden.

Bei Immunisation mit einer Bakterie (wie z. B. bei der Immunisation gegen Pneumokokken nach Roemer, wobei verschiedene Tiere zur Immunisation verwendet werden) ist zur Gewinnung verschiedener Immunkörper die Ausnützung verschiedener Tiergattungen vielleicht zu empfehlen, bei Immunisation mit verschiedenen artgleichen Bakterien genügt dieselbe Tiergattung.

Der Hund ist gegen den *Bac. suisepiticus* weniger empfänglich, gegen den *Bac. suisepitifer* beinahe unempänglich, nur junge Hunde starben nach intraperitonealer Injektion mit *Bac. suisepiticus*. Wir

legten uns zunächst die Frage vor, ob es beim Hunde möglich ist, mit kleinen, steigenden, ungeschwächten Kulturen des *Bac. suisepcticus* die Immunisation durchzuführen, und dann machten wir folgenden Versuch:

Ein Hund bekommt 0,3 g einer 24 Std. alten Bouillonkultur des *Bac. suisepcticus*; an der Injektionsstelle entwickelt sich ein Absceß, im Eiter zahlreiche *Bac. suisepctici*. Nach 10 Tagen bekommt der Hund 0,5 einer ungeschwächten 24 Std. alten Bouillonkultur des *Bac. suisepct.* Nach 6 Tagen 1 g derselben Kultur. Der Hund stirbt den 3. Tag nach der letzten Injektion; im Herzblute, Milz, Leber *Bac. suisepct.* nachweisbar. In den folgenden Versuchsreihen wurde daher die Immunisation mit dem *Bac. suisepct.* mit abgeschwächten Kulturen begonnen.

I.

Hund No. I bekommt am:

- | | | | | |
|---------|------|-----|---|---------------------------------------|
| 2. I. | 1903 | 2 g | einer 24-stünd. Bouillonkult. des <i>Bac. s. (suisepct.)</i> | $\frac{1}{2}$ Std. auf 60° C erwärmt. |
| 7. I. | " | 2 g | " " " " " " " " | $\frac{1}{4}$ " " 60° " " |
| 12. I. | " | 2 g | " " " " " " " " | 5 Min. " 60° " " |
| 16. I. | " | 2 g | vollvirulenter Kultur des <i>Bac. s.</i> (an der Injektionsstelle entsteht ein Absceß, nach 4 Tagen injiziert, im Eiter charakteristische Bacillen) | |
| 21. I. | " | 2 g | der ungeschwächten Kultur des <i>Bac. s.</i> | subkutan |
| 26. I. | " | 3 g | " " " " " " " " | |
| 31. I. | " | 4 g | " " " " " " " " | |
| 5. II. | " | 5 g | " " " " " " " " | |
| 10. II. | " | 5 g | " " " " " " " " | |
| 15. II. | " | 5 g | " " " " " " " " | |
| 18. II. | " | 5 g | " " " " " " " " | intravenös ohne Reaktion |

Hund No. II bekommt am:

- | | | | |
|---------|-----|--|-----------------------------|
| 2. I. | 2 g | vollvirulenter Kultur des <i>Bac. suisepctifer (sp.)</i> | subkutan |
| 7. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 12. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 16. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 21. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 26. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 31. I. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 5. II. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 10. II. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 15. II. | 5 g | " " " " " " " " | " |
| 18. II. | 5 g | " " " " " " " " | intraperiton. ohne Reaktion |

Nach intraperitonealer Injektion läßt sich bei nicht immunisierten Hunden leicht eine Reaktion hervorrufen. Das Fehlen der Reaktion zeigte das Erlangen der Immunität.

28. II. wurden die Hunde mittelst Verblutung getötet.

Das angesammelte Serum wurde zu folgenden Versuchen verwendet (s. Tab. p. 106).

Diese Versuchsreihe zeigt, daß das Serum von Tieren, welche mit dem *Bac. suisepcticus* immunisiert wurden, auch gegen *Bac. sp.* und umgekehrt, schützt.

Was die Applikation des Serums anbelangt, so ist es besser, dieses intraperitoneal einzuimpfen, was eine rasche Wirkung desselben zur Folge hat, während die Kultur subkutan appliziert wird.

Die Kultur intraperitoneal zu impfen, wie es bei der Bestimmung des Rotlaufserums geschieht, scheint mir für den *Bac. suisepcticus* und *suisepctifer* wenig passend, da er bei intraperitonealer Injektion bei den sehr empfänglichen Mäusen leicht eine Läsion verursachen kann, welche das Bild der Prüfungsmethode trüben könnte.

A.

Serum des Hundes No. I.

- a) injiziert 4 Mäusen subkutan. Dosis 0,01 g. In 24 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s.¹⁾ mit Bouillon vermischt. 48 Std. alt. aus dem Blute einer Maus gezüchtet, welche mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete.
 - b) 2 Kontrollmäusen 1 Oese derselben Kultur mit Bouillon vermischt.
 - c) 4 Mäusen 0,01 g Serum des Hundes No. I in 24 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp. vom Blute einer Maus gezüchtet, welche mit Bac. sp. geimpft, in 3 Tagen verendete.
 - d) 2 Kontrollmäusen 1 Oese derselben Kultur.
- Alle mit dem Serum vorgeimpften 8 Mäuse blieben am Leben. Sie waren zwar die ersten Tage krank, erholten sich aber bald.
- Die Kontrollmäuse verendeten, mit Bac. s. geimpft, in 48 Std., mit Bac. sp. in 3 Tgn.

C.

- a) 2 Mäusen 0,01 Serum des Hundes No. I intraper. in 3 Std. Kultur des Bac. s. 1 Oese subkut. Blieben am Leben.
 - 2 Kontrollmäuse † nach derselben Dosis in 48 Std.
 - b) 2 Mäusen 0,01 g Serum des Hundes No. I intraper. in 3 Std. Kultur des Bac. sp. 1 Oese subk. Blieben am Leben. Die Kontrollmäuse † in 3 Tagen nach derselben Dosis.
 - c) 2 Mäuse 0,01 g Serum des Hundes No. I subkut. in 24 Std. 1 Oese einer Kultur des Bac. sp. intraper.
- Beide Mäuse erkrankten. Blieben aber am Leben.
- 2 Kontrollmäuse verenden nach intraper. Injektion schon in 36 Std.

B.

Serum des Hundes No. II.

- a) 4 Mäusen subkutan injiziert. Dosis 0,01 g. In 24 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp.²⁾ mit Bouillon, 48 Std. alt, aus dem Blute einer Maus gezüchtet, welche mit Bac. sp. geimpft, in 3 Tagen verendete.
 - b) 2 Kontrollmäusen 1 Oese einer Kultur des Bac. sp. subkutan.
 - c) 4 Mäusen subkutan 0,01 g Serum des Hundes No. II in 24 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s.
 - d) 2 Kontrollmäusen 1 Oese derselben Kultur.
- Alle mit Serum vorbehandelten Mäuse blieben am Leben. kränkelten zwar die ersten Tage, aber erholten sich wieder.
- Die Kontrollmäuse verendeten, mit Bac. s. geimpft, in 48 Std., mit Bac. sp. in 3 Tgn.

D.

- a) 2 Mäusen 0,01 g Serum des Hundes No. II intraper. in 3 Std. Kultur des Bac. sp. 1 Oese subkut. Blieben am Leben.
 - 2 Kontrollmäuse † nach derselben Dosis in 3 Tagen.
 - b) 2 Mäusen 0,01 g Serum des Hundes No. II intraper. in 3 Std. Kultur des Bac. sp. 1 Oese subk. Blieben am Leben. Die Kontrollmäuse † in 3 Tagen nach derselben Dosis.
 - c) 2 Mäuse 0,01 g Serum des Hundes No. II in 24 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s. intraper.
- Erkrankten schwer, blieben am Leben.
- 2 Kontrollmäuse intraper. mit 1 Oese geimpft, verenden in 18 Std.

II.

Da der Hund gegen den Bac. suisepiticus empfänglicher ist als gegen den Bac. suisepitifer, und da die wechselseitige Immunitätskraft beider Bacillen experimentell erwiesen wurde, so wurde in der nachfolgenden Versuchsreihe der Hund No. III zuerst mit dem Bac. sp. vorbehandelt und dann erst mit dem Bac. s. geimpft.

Hund No. III bekommt am:

24.	II.	2 g	Bouillonkultur, 24 Std. alt, des Bac. sp. ungeschwächt	
25.	II.	2 g	" " " " " " " "	" "
3.	III.	3 g	" " " " " " " "	" "
11.	III.	5 g	" " " " " " " "	" "
17.	III.	2 g	" " " " " " Bac. s.	ohne Reaktion
22.	III.	3 g	" " " " " " " "	" "
27.	III.	3 g	" " " " " " " "	" "
1.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" "
6.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" "
11.	IV.	5 g	" " " " " " " "	intraper. ohne Reaktion

1) Bac. suisepiticus = Bac. s.

2) Bac. suisepitifer = Bac. sp.

21. IV. wurde den Hunden das Blut abgenommen.

Mit seinem Serum wurden folgende Versuche unternommen:

- a) 2 Mäusen Serum des Hundes No. III intraper. 0,01 g in 3 Stunden 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s. subk.
 b) 2 Kontrollmäusen 1 Oese des Bac. s. subkutan.
 c) 2 Mäusen Serum des Hundes No. III intraper. 0,01 g in 3 Stunden 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp.
 d) 2 Kontrollmäusen 1 Oese des Bac. sp. subkut. Die Mäuse vorher mit dem Serum geimpft blieben am Leben.
 Die Kontrollmäuse mit dem Bac. s. geimpft † in 48 Std.
 Die Kontrollmäuse mit dem Bac. sp. geimpft † in 3 Tagen.

Diese Versuche zeigen, daß die vorangehende Immunisation mit dem Bac. sp. ermöglicht, mit vollvirulentem Bac. s. die Immunisation fortzusetzen, und daß das so gewonnene Serum schützende Eigenschaften gegen beide Bacillen besitzt.

III.

Hund No. IV bekommt am:

24.	II.	2 g	des Bac. s. abgeschwächt auf 60° C	1/2 Std.	subkutan	
28.	II.	2 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	" "
5.	III.	2 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	10 Min. "
11.	III.	2 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	5 " "
17.	III.	2 g	" " " " virulenter Kultur	subkutan		
22.	III.	2 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	
27.	III.	2 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	
1.	IV.	3 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	
6.	IV.	4 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	
11.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	
15.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" " "	

Hund No. V bekommt am:

24.	II.	2 g	Bouillonkultur des Bac. sp. ungeschwächt	subkutan	
28.	II.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
5.	III.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
11.	III.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
17.	III.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
22.	III.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
27.	III.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
1.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
6.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
11.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "
15.	IV.	5 g	" " " " " " " "	" " "	" "

Am 24. IV. wurde den Hunden IV und V das Blut abgenommen, ihr Serum zu folgenden Versuchen verwendet:

A.

- | | |
|--|---|
| <p>a) 2 Mäusen Serum des Hundes No. IV intraper. 0,01 g in 34 Std. 1 Oese der Kultur des Bac. sp. subkutan.
 b) 2 Kontrollmäusen 1 Oese des Bac. s. subkut.
 c) 2 Mäusen Serum des Hundes No. IV intraper. 0,01 g in 3 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp. subkutan.
 Die mit dem Serum vorbehandelten Mäuse blieben am Leben.
 Die Kontrollmäuse mit dem Bac. s. geimpft † in 48 Std., mit dem Bac. sp. † in 3 Tagen.</p> | <p>a) 2 Mäusen Serum des Hundes No. V 0,01 g in 3 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp. subkutan.
 b) 2 Kontrollmäusen 1 Oese des Bac. sp. subkutan.
 c) 2 Mäusen Serum des Hundes No. V 0,01 g in 3 Std. 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s. subkutan.
 d) 2 Kontrollmäusen 1 Oese derselb. Kultur. Die mit dem Serum vorbehandelten Mäuse blieben am Leben.
 Die Kontrollmäuse mit dem Bac. s. geimpft † in 48 Std., mit dem Bac. sp. † in 3 Tagen.</p> |
|--|---|

B.

- | | |
|---|--|
| <p>a) 4 Mäusen Serum des Hundes No. IV 0,01 g intraper. in 3 Std. subkut. 1 Oese des Peritonealexsudates¹⁾ eines Meerschweinchens, welches, mit der Kultur des Bac. s. intraper. geimpft, in 24 Std. verendet.</p> <p>3 Mäuse erkrankten schwer, erholten sich aber binnen 5 Tagen wieder. 1 Maus (Lebendgewicht nur 12 g) starb den 3. Tag.</p> <p>b) 2 Kontrollmäuse mit demselben Exsudate geimpft subkut. (1 Oese) verendeten in 18 Std.</p> | <p>a) 4 Mäusen Serum des Hundes No. V intraper. 0,01 g in 3 Std. subkut. 1 Oese des Peritonealexsudates eines Meerschweinchens, welches, mit der Kultur des Bac. sp. intraper. geimpft, in 2 Tagen verendet.</p> <p>Alle Mäuse erkrankten schwer, erholten sich binnen 4 Tagen wieder.</p> <p>b) 2 Kontrollmäuse, mit demselben Exsudate geimpft, † in 24 Std.</p> |
|---|--|

C.

- | | |
|---|--|
| <p>a) 4 Mäusen injiziert intraper. Serum des Hundes No. V. In 3 Std. subk. 2 Oesen des Peritonealexsudates eines mit Bac. s. geimpften und in 24 Std. verendeten Meerschweinchens.</p> <p>b) 2 Kontrollmäusen 2 Oesen desselben Exsudates.</p> <p>Die 4 mit dem Serum vorgeimpften Mäuse verenden in 2 Tagen.</p> <p>2 Kontrolltiere † in 14 Std.</p> | <p>a) 4 Mäusen injiziert intraper. Serum des Hundes No. V. In 3 Std. 2 Oesen des Peritonealexsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. sp. geimpft in 2 Tagen verendete.</p> <p>b) 2 Kontrollmäusen 2 Oesen desselben Exsudates.</p> <p>Die 4 mit dem Serum vorgeimpften Mäuse verenden in 3 Tagen.</p> <p>2 Kontrollmäuse binnen 24 Std.</p> |
|---|--|

D.

- | | |
|---|---|
| <p>a) 4 Mäusen intraperitoneal 0,005 g Serum des Hundes No. IV + 0,005 g " " " " V
Nach 3 Std. 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete.
Die Mäuse blieben am Leben.</p> <p>b) 2 Kontrollmäuse ebenso geimpft † in 18 Std.</p> | <p>a) 4 Mäusen intraperitoneal 0,006 g Serum des Hundes No. IV + 0,006 g " " " " V
Nach 3 Std. 2 Oesen des periton. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. s. infiziert, in 2 Tagen verendet.
Die Mäuse blieben am Leben.</p> <p>b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, † in 24 Std.</p> |
|---|---|

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, wie günstig die stärkere Wirkung des Doppelserums von Hunden ist, welche gegen den Bac. s. und sp. immunisiert wurden, gegenüber dem Serum des Hundes, welcher nur gegen einen dieser Bakterien immunisiert wurde.

IV.

Dem Hunde VI wurde injiziert am:

1. V. 2 g	einer Bouillonkultur des Bac. s. erwärmt auf 60° C	1/2 Std.
6. V. 2 g	" " " " " "	1/4 "
11. V. 2 g	" " " " " "	1/4 "
17. V. 2 g	" " " " " "	10 Min.
21. V. 2 g	" " " " " "	5 "
26. V. 2 g	" " " " " "	vollvirulent
31. V. 3 g	" " " " " "	"
2. VI. 3 g	" " " " " "	"
7. VI. 3 g	" " " " " "	"
12. VI. 5 g	" " " " " "	"
18. VI. 5 g	" " " " " "	"

1) Das peritoneale Exsudat von Meerschweinchchen, welche mit dem Bac. s. oder sp. geimpft wurden, ist höchst infektiös. Bei Impfung mit dem Bac. sp. ist zwar das Exsudat nur in geringer Menge angesammelt, aber enthält eine sehr große Zahl von Bacillen und wirkt in der kleinsten Menge tödlich.

Dem Hunde No. VII wurde injiziert am:

1.	V.	2 g	einer	Bouillonkultur	des	Bac. sp.	vollvirulent		
6.	V.	3 g	"	"	"	"	"	"	"
11.	V.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
17.	V.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
21.	V.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
26.	V.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
31.	V.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
2.	VI.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
7.	VI.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
12.	VI.	5 g	"	"	"	"	"	"	"
18.	VI.	5 g	"	"	"	"	"	"	"

Kaninchen No. I bekommt am:

22.	IV.	0,5 g	Kultur	des	Bac. sp.	1/2 Std.	auf	60° C
25.	IV.	0,5 g	"	"	"	1/4 " "	"	"
28.	IV.	0,5 g	"	"	"	10 Min.	"	"
1.	V.	1 g	"	"	"	10 " "	"	"
6.	V.	1 g	"	"	"	10 " "	"	"
11.	V.	1 g	"	"	"	10 " "	"	"
17.	V.	0,2 g	"	"	"	virulenter Kultur	"	"
21.	V.	0,5 g	"	"	"	"	"	"
26.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"
31.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"
2.	VI.	1 g	"	"	"	"	"	"
7.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"
12.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"
18.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"

Kaninchen No. II bekommt am:

22.	IV.	0,5 g	Kultur	des	Bac. s.	abgeschwächt	auf	60° C	1/2 Std.
25.	IV.	0,5 g	"	"	"	"	"	"	1/4 " "
28.	IV.	0,5 g	"	"	"	"	"	"	1/4 " "
30.	IV.	0,5 g	"	"	"	"	"	"	10 Min.
1.	V.	0,5 g	"	"	"	"	"	"	10 " "
6.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"	10 " "
11.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"	10 " "
17.	V.	0,3 g	"	"	"	virulenter Kultur	"	"	"
21.	V.	0,5 g	"	"	"	"	"	"	"
26.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"	"
31.	V.	1 g	"	"	"	"	"	"	"
2.	VI.	1 g	"	"	"	"	"	"	"
7.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"	"
12.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"	"
18.	VI.	2 g	"	"	"	"	"	"	"

A.

- a) 6 Mäuse bekommen subkut. 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches in 2 Tagen, mit Bac. sp. geimpft, verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. VI + 0,005 g " " Kaninchens No. I. Alle Mäuse erkrankten und verendeten und zwar
 2 Mäuse am 4. Tag
 4 " " 6.—7. Tag.
- b) Die 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten binnen 24 Std.

- a) 6 Mäuse bekommen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. VII. + 0,005 g " " Kaninchens No. I. Alle Mäuse erkrankten und verendeten und zwar
 3 Mäuse den 4. Tag
 3 " " 7. "
- b) Die 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten in 24 Std.

B.

- a) 6 Mäuse bekommen subkut. 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches in 24 Std. verendete, geimpft mit Bac. s. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. VI + 0,005 g " " Kaninchens No. I.

- a) 6 Mäuse bekommen subkut. 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. VII + 0,005 g " " Kaninchens No. I

Alle Mäuse verenden:

2 in 2 Tagen
3 " 3 "
1 " 4 "

b) 2 Kontrollmäuse ebenso geimpft, verenden in 16 Std.

Alle Mäuse verenden:

2 in 2 Tagen
2 " 3 "
2 " 4 "

b) 2 Kontrollmäuse ebenso geimpft, verenden in 18 Std.

C.

a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem

0,005 g Serum des Hundes No. VI
+ 0,005 g " " Kaninchens No. II.

Alle Mäuse verendeten:

2 Mäuse in 4 Tagen
5 " " 6 "

b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verenden in 24 Std.

b) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem

0,005 g Serum des Hundes No. VII
+ 0,005 g " " Kaninchens No. II.

Alle Mäuse verendeten:

2 Mäuse in 4 Tagen
3 " " 6 "
1 Maus " 7 "

b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten in 24 Std.

D.

a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. s. in 24 Std. verendete. Vordem

0,005 g Serum des Hundes No. VI
+ 0,005 g " " Kaninchens No. II.

Alle Mäuse verendeten:

2 Mäuse in 3 Tagen
4 " " 4 "

b) 2 Kontrollmäuse verendeten in 16 Std.

a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete. Vordem

0,005 g Serum des Hundes No. VII
+ 0,005 g " " Kaninchens No. II.

Alle Mäuse verendeten:

3 Mäuse in 3 Tagen
3 " " 4 "

b) 2 Kontrollmäuse verendeten in 17 Std.

Bei allen verendeten Mäusen wurden mikroskopisch und kulturell charakteristische Bacillen in der Milz, Leber und im Blute konstatiert.

Diese Versuche zeigen die größere Schutzkraft des Doppelsersums von Tieren derselben Gattung gegenüber dem Doppels Serum von Tieren fremder Tiergattung.

V.

2 Hunden No. VIII und IX wurden folgende gleiche Dosen injiziert am:

1.	V.	2 g	Kultur des Bac. s. abgeschwächt	$\frac{1}{2}$ Std. auf 60° C
6.	V.	2 g	" " " " " "	" " " "
11.	V.	2 g	" " " " " "	$\frac{1}{4}$ " " " "
14.	V.	2 g	" " " " " "	10 Min. " " "
17.	V.	2 g	" " " " " "	5 " " " "
21.	V.	3 g	" " " " " "	virulent
26.	V.	5 g	" " " " " "	"
31.	V.	5 g	" " " " " "	"
2.	VI.	5 g	" " " " " "	"
7.	VI.	5 g	" " " " " "	"

2 Hunden No. X und XI wurden folgende gleiche Dosen injiziert am:

1.	V.	2 g	einer Bouillonkultur des Bac. sp.
6.	V.	3 g	" " " "
11.	V.	5 g	" " " "
14.	V.	5 g	" " " "
17.	V.	5 g	" " " "
21.	V.	5 g	" " " "
26.	V.	5 g	" " " "
31.	V.	5 g	" " " "
2.	VI.	5 g	" " " "
7.	VI.	5 g	" " " "

Am 16. VI. wurde den Hunden das Blut abgenommen und mit diesem Serum folgende Versuche ausgeführt:

A.

- | | |
|---|--|
| a) 2 Mäusen subkutan 1 Oese einer Agarkultur des Bac. s. Vordem 0,01 g Serum des Hundes No. VIII.
Mäuse blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse verenden in 36 Std., soeben geimpft. | a) 2 Mäusen subkutan 1 Oese einer Agarkultur des Bac. sp. Vordem 0,01 g Serum des Hundes No. IX.
Mäuse blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse verendeten in 3 Tagen. |
|---|--|

B.

- | | |
|---|---|
| a) 2 Mäusen subkutan 1 Oese des Bac. s. Vordem 0,01 Serum des Hundes No. X. Blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse verenden in 36 Std. | a) 2 Mäusen 1 Oese des Bac. sp. Vordem 0,01 g Serum des Hundes No. XI. Blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse verenden in 3 Tagen. |
|---|---|

Serum der Hundes No. VIII, IX, X und XI hatte eine gegenseitige schützende Wirkung gegen Bac. s. und Bac. sp.

C.

- | | |
|---|---|
| a) 4 Mäusen 2 Oesen subkut. des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete. Vordem 0,01 Serum des Hundes No. VIII intraper. in 3 Std. Kultur subkut. Alle Mäuse verendeten in 3—4 Tagen.
b) 2 Kontrollmäuse verendeten binnen 20 Std. | a) 4 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem 0,01 g Serum des Hundes No. X. Alle Mäuse verendeten in 4—5 Tagen.
b) 2 Kontrollmäuse verendeten binnen 24 Std. |
|---|---|

D.

- | | |
|---|---|
| a) 6 Mäusen 2 Oesen intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. s. geimpft, in 24 Std. verendete. Vordem 0,005 Serum des Hundes No. VIII + 0,005 " " " " IX. Alle Mäuse verendeten binnen 3—4 Tagen.
b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten in 18 Std. | a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. X + 0,005 g " " " " XI. Alle Mäuse verendeten binnen 6—8 Tagen.
b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten in 24 Std. |
|---|---|

E.

- | | |
|---|---|
| a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. s. geimpft, binnen 24 Std. verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. VIII + 0,005 g " " " " X. Alle Mäuse blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verenden binnen 18 Std. | a) 6 Mäusen 2 Oesen des intraper. Exsudates eines Meerschweinchens, welches, mit Bac. sp. geimpft, in 2 Tagen verendete. Vordem 0,005 g Serum des Hundes No. IX + 0,005 g " " " " XI. Alle Mäuse blieben am Leben.
b) 2 Kontrollmäuse, ebenso geimpft, verendeten binnen 24 Std. |
|---|---|

Nach diesen letzten Erfahrungen ist durch die Immunisation mit zwei verschiedenen artgleichen Bakterien, verschiedener, passender Immunkörper zur Bindung mit passenden Komplementen in dem geimpften Tierkörper zu erzielen. Nicht so stark wirkt das Doppelserum von 2 Tieren, welche mit denselben Bakterien geimpft wurden.

Solches Doppelserum wirkt nur als das Serum eines Tieres, welches gegen eine Art der Bacillen immunisiert worden ist.

Resumé.

- 1) Das Serum von mit Bac. suisepticus immunisierten Hunden schützt gegen den Bac. suisepticus sowie suipestifer.
- 2) Das Serum von dem mit Bac. sp. immunisierten Hunden schützt gegen den Bac. sp. sowie s.
- 3) Nach vorheriger Immunisation mit Bac. sp. ist es möglich, gleich mit der Impfung mit vollvirulentem Bac. s. zu beginnen.

4) Die höchste Schutzkraft besitzt das Doppelserum von Hunden, welche gegen beide Arten von Bacillen immunisiert worden sind.

Das Doppelserum von Hunden, welche nur gegen eine Art dieser Bakterien immunisiert wurden, besitzt nicht in so großem Maße die schützenden Eigenschaften.

Nach dem Vorschlage von Ostertag und Wassermann wird es wahrscheinlich möglich sein, durch Immunisation mit verschiedenen Stämmen bei großen Tieren für die Praxis gut wirkende Sera zu erzielen, den Erfahrungen folgend, welche in den beschriebenen Versuchen gesammelt worden sind.

Nachdruck verboten.

Beiträge zum Studium der natürlichen Immunität

Von Prof. R. Turró, Barcelona,

Direktor des Laboratoriums der Academia de ciencias médicas de Cataluña.

Aus dem Spanischen übertragen von Dr. Alfred Berliner, Berlin.

I.

Alles, was wir über die natürliche Immunität wissen, betrifft im großen und ganzen zwei Hauptmomente, die bakterizide Kraft des Blutserums und den Phagocytismus. Die Entdeckung des bakteriziden Serums gegenüber dem *B. anthracis* verdanken wir v. Fodor, die weitere Ausgestaltung Nuttall. Die Bezeichnung Alexine stammt von Buchner, der darunter im Serum gelöste zymotische Substanzen als Ursachen der bakteriziden Kraft versteht. Behring und Nissen haben gezeigt, daß das Serum nicht auf alle Bakterienarten bakterizid wirkt, ja auch je nach der Tierspecies sich verschieden verhält; so zeigte sich Kaninchenserum äußerst empfindlich gegen Milzbrandbacillen, während das Serum des Hundes, der selbst für Milzbrand gar nicht empfänglich ist, diese Eigenschaften nicht besitzt. Alle diese grundlegenden Arbeiten haben uns bewiesen, daß die Alexine im Serum ein gewaltiges Verteidigungsmittel des Organismus darstellen.

Der Entdeckung v. Fodors und Nuttalls ging die bewunderungswürdige Beobachtung Metschnikoffs voraus, daß die Leukocyten die Fähigkeit besitzen, Bakterien in sich aufzunehmen und zu verdauen: sie hatte die „Schule der Phagocytentheorie“ zur Folge, die sich bereits zahlreicher Anhänger erfreute. Dieselben sahen in der natürlichen Immunität das Resultat eines Ringens zwischen Leukocyten und infektiösem Agens. Als nun weiterhin bekannt wurde, daß das Blutserum die Fähigkeit besitzt, bestimmte Bakterienarten ohne Zutun von Phagocyten zu verdauen, suchten zahlreiche Autoren den Nachweis zu führen, daß die Alexine des Serums aus den Leukocyten stammen, sei es durch Phagolyse, sei es durch „Sekretionsvorgänge“. Sei dem wie es wolle, so viel steht heutzutage fest, daß nach unserer bisherigen Kenntnis als einzig sicher bekannte Quellen für die Verteidigung des Organismus die Alexine des Serums und die Phagocyten zu gelten haben; daraus zog man den Schluß, daß andere Quellen, weil nicht bewiesen, auch nicht existieren. Dies war aber nur eine unbewiesene Hypothese, denn niemand hatte sich die Mühe genommen, experimentell nachzuweisen, ob nicht im Schilddrüsen- und Muskelsaft, in den Macerationsprodukten der Milzpulpa u. s. w. Ver-

daungssäfte wie im Blutserum wirksam sind. Solange v. Fodor und Nuttall noch nicht ihre Experimente über die Wirksamkeit des Serums angestellt hatten, glaubte man auch blindlings, daß als einziges Zerstörungsmittel von Bakterien für den Organismus die Leukocyten in Betracht kämen. Langsam und spät erst verstand sich die gelehrte Welt dazu, mit den herrschenden Anschauungen zu brechen und die enorme Bedeutung der Entdeckung von Flüggés Schüler richtig zu würdigen, daß nämlich die Verteidigungsmittel des Organismus weit machtvollere seien, als bisher angenommen wurde. Ich habe nun in meinen Arbeiten nachweisen können, daß der Umfang dieser Machtmittel noch wesentlich größer ist als man heute glaubt; daß nicht allein Serum und Leukocyt das infizierende Bakterium angreifen, sondern jedwedes Zellplasma in größerem oder geringerem Maße, vorausgesetzt, daß seine Alexine, die es birgt, löslich und dadurch wirksam werden.

In meiner¹⁾ ersten Mitteilung aus dem Jahre 1900 konnte ich nachweisen, daß ein von Serum befreites Blutplasma, welches man im Vakuum in eine lösliche Substanz übergeführt hat, sei es durch langsame Einwirkung von Trypsin oder Galle, sei es durch spontane Autolyse, eine bakteriolytische Kraft entfaltet, die unvergleichlich höher als die des Serums ist. Zu jener Zeit konnte ich mir über diese Vorgänge noch kein klares Bild machen. Aber weitere, eingehende Studien, die ich²⁾ zu Anfang des Jahres 1902 veröffentlicht habe, bewiesen mir, daß auch die mittels Auspressens gewonnenen Säfte der Schilddrüse und des Muskelgewebes in kurzer Zeit junge Milzbrandkulturen zu einem Viertel ihres Gewichtes verdauen können. Dagegen entfalten sofort gerinnende Plasmasubstanzen keine bakteriolytischen Eigenschaften in diesem Zustande, sondern zeigen sich unwirksam. Andererseits wenn man Nierengewebe, Nebennierenkapsel, Milz, Leber, Lymphdrüsen etc. zu einer feinen Masse zerreibt und sie in 3—4 Gewichtsteilen 1-proz. Salzlösung macerieren läßt, so läßt sich nachweisen, daß sie an die Macerationsflüssigkeit in großer Menge Alexine abgeben — wie die Magenschleimhaut bei Gegenwart von Salzsäurelösung Pepsin abscheidet. — Diese Alexine vermögen innerhalb 24 Stunden bis zur Hälfte ihres Gewichtes Milzbrandbacillen zu verdauen (cf. R. Turró, *Digestion des bactéries*. *Revue vétérinaire*. 1902. p. 688).

Aus allen diesen Experimenten, die mir von vielen Seiten bestätigt wurden, erhellt, daß der lebende Organismus Substanzen birgt, die nach erfolgter Lösung die Bakterien angreifen; es ergibt sich ferner daraus, daß die bakteriziden Eigenschaften des Serums und der Leukocyten nicht bloß an diese Flüssigkeit resp. diese histologischen Elemente gebunden sind, sondern ganz allgemein der lebenden Materie anhaften. Es genügt, die Substanzen löslich zu machen, um sie in vitro eine wunderbare Kraft entfalten zu lassen.

In meiner zweiten Veröffentlichung habe ich gezeigt, daß Eidotter von Hühnereiern bei feiner Mischung mit Milzbrandbacillen noch keine bakteriziden Eigenschaften besitzt; es kommt lediglich zu einer Lösung ihres Protoplasmas, das nach Ablauf von 3—4 Tagen in Fragmente zerfällt. Rührt man jedoch den Dotter innig mit Eiweiß zusammen, unter Zusatz von 2 Proz. Fluornatrium, um die Fäulnis zu vermeiden,

1) Turró, Zur Bakterienverdauung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900. p. 173.)

2) Turró, R., Zur Bakterienverdauung. (Centralbl. f. Bakt. 1902. No. 2.)

so bemerkt man, daß eine dichte Masse sich abscheidet und zu Boden fällt; drei Viertel des übrigen Quantums bleiben klar und werden schließlich ganz durchsichtig. Diese bernsteinfarbene Flüssigkeit, welche ich als Oviserum bezeichnet habe, besitzt nach 20—30 Tagen eine ganz außerordentlich bakteriolytische Kraft: in 2—3 Tagen bei 37° C verdaut sie Milzbrandbacillen zur Hälfte ihres Gewichts. Dieselben senken sich als graue, amorphe, schleimige Masse zu Boden, die den Wänden anhaftet. Schöpft man dann das Oviserum ab, so bleibt es noch für einen zweiten und dritten Verdauungsprozeß wirksam, als ob seine Alexine unerschöpflich wären.

Aus dieser Serie von Beobachtungen in meinem Laboratorium, die einen Zeitraum von 4 Jahren umfaßt, läßt sich ableiten, daß die Alexine in Wirklichkeit keine Substanzen darstellen, die dem Serum entspringen oder ihm eigentümlich sind, ihr Ursprung ist vielmehr ein cellulärer. Sie gehen aus dem Organplasma hervor, welches im macerierten Zustande lebenskräftig bleibt in jener alkalisch reagierenden Flüssigkeit von durchweg salzhaltiger Beschaffenheit, die wir als Blutserum bezeichnen und in dem wir das natürliche Lösungsmittel der Alexine zu sehen haben (cf. Turró, Ursprung und Beschaffenheit der Alexine. Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 36; Journal de physiol. et pathol. génér. 1903. 15. sept.). Ein infektiöses Agens kann im Blutserum ebenso verdaut werden, wie in jeder anderen bakteriziden Flüssigkeit oder im Innern eines lebenden Zellplasmas, mag letzteres nun leukocytärer, epithelialer oder muskulärer Natur sein, vorausgesetzt, daß seine Alexine löslich und damit aktiv wirksam sind.

Bei dem Vorgange der natürlichen Immunität sind demnach mehr Faktoren beteiligt als die humoralpathologische Anschauung, die Phagocytenlehre und die zwischen ihnen vermittelnde elektive Theorie gelten lassen, von denen die letztere zur Zeit die herrschende ist. Vielmehr scheint die natürliche Immunität das Ergebnis einer „inneren Bakteriolyse“ zu sein, ein Gedanke, den schon Pfeiffer angedeutet hat; sie würde dann beruhen auf einer den Zellen eigentümlichen Fähigkeit, lösliche Alexine herauszuarbeiten, um sie in dem sie umgebenden Medium zu verteilen. Von dieser Grundidee ging ich bei Inangriffnahme der vorliegenden Arbeit aus, um den Nachweis zu führen, daß die Widerstandskraft des Organismus gegen eine Infektion sich steigern läßt, falls es gelingt, den Zellen bereits *in vitro* bakteriolytisch wirkende Nährstoffe zuzuführen, die den natürlichen oder in Bildung begriffenen Alexinen neue hinzufügen.

II.

Die natürliche Immunität darf nicht als ein absolut feststehender Begriff aufgefaßt werden, sondern lediglich im relativen Sinne, indem man sie abmißt je nach dem Grade der Widerstandskraft, den der Organismus einer gegebenen Infektion entgegensetzt; der Hund verhält sich gegen den Milzbrand refraktär; vielleicht aber gelangen wir eines Tages dazu, einen Modus zu finden, um dem Tiere seine Immunität zu nehmen, die wir heute noch als absolut ansehen. Der Hammel verhält sich gegen das genannte Gift widerstandsfähiger als das Kaninchen, dieses wiederum widerstandsfähiger als das Meerschweinchen. Alle diese Wesen setzen der Vermehrung des Milzbrandbacillus einen größeren oder geringeren Resistenzgrad entgegen, und keines gibt einen so günstigen Nährboden, wie etwa eine Bouillonkultur, ab. Demnach

ist natürliche Immunität der Grad von Widerstandskraft, ganz gleichgültig, wie groß er ist, den eine Tiergattung resp. einzelne Individuen derselben einer gegebenen Infektion entgegenzusetzen.

Dies vorausgesetzt, brauchten wir uns nur einer Substanz mit großen bakteriolytischen Fähigkeiten, wie sie das Oviserum besitzt, bedienen, um die Verteidigungsmittel des Organismus zu steigern. Dieser Gedankengang führte uns darauf, eine Steigerung der natürlichen Immunität auf künstlichem Wege zu versuchen. Um aber experimentell vorgehen zu können, mußten wir uns zunächst ein reines, aseptisches Oviserum verschaffen, ein Verfahren, das leider in praxi schwieriger durchführbar ist als es scheint.

A. Herstellung des aseptischen Oviserums.

Man sterilisiert 2—3 Dutzend Kölbchen mit engem Halse von 50 ccm Inhalt. Die Schalen der zur Verwendung gelangenden Eier werden sorgfältig mittelst Watte in warmem Wasser abgewaschen, bis keinerlei Schmutz mehr anhaftet, und auf 1 Stunde in ein Bad mit absolutem Alkohol gebracht. Dann werden sie an einem Pol geöffnet, jedes in einen Kolben entleert und tüchtig durchgeschüttelt, bis Eiweiß und Dotter sich völlig vermengt haben. Die Mischung bleibt bei einer Temperatur von 35° C 20—30 Tage im Brutschrank; es scheidet sich währenddessen am Boden eine halb feste Masse ab, während darüber eine klare Flüssigkeit schwimmt, die große Mengen Eidotter gelöst enthält. Diese Flüssigkeit ist das Oviserum, das zur Einspritzung jetzt geeignet ist. Geht das Verfahren nicht den geschilderten Gang, sondern tritt eine Gerinnung oder Trübung der Menge ein, so ist dies ein sicheres Zeichen von Fäulnisvorgängen und der betreffende Kolben nicht mehr zur Verwendung geeignet. Aber auch die übrigen sind erst dann als aseptisch anzusehen, wenn sie bei Kaninchen oder Meerschweinchen in einer Dosis von 5 g angewandt worden sind.

B. Unmittelbare Wirkung nach Injektion von Oviserum bei Kaninchen.

Einer Reihe Kaninchen injizieren wir 5 g Oviserum, mit 15 ccm Aq. destillata oder Kochsalzlösung verdünnt, unter die Haut und zwar an 3 aufeinanderfolgenden Tagen; die Tiere vertragen den Eingriff gut, sie verlieren ihre Freßlust nicht, die Temperatur bleibt normal, Puls und Respiration zeigen keine Veränderung. Am 4. Tage erhalten sie eine Milzbrandkultur eingepflicht; obwohl nun ihre Körpersäfte eine Substanz in Lösung enthalten, die in vitro stark bakteriolytisch wirkt und die auch alle Gewebe imprägniert haben muß, sterben die Versuchstiere doch vor den Kontrolltieren an Pyämie. Läßt man sie jedoch mindestens 10 bis 12 Tage in Ruhe, und impft sie erst dann mit dem Virus, so wird ihr Tod um 9—17 Tage gegen den der Kontrolltiere aufgehalten.

Dieses Experiment ist nicht nur sehr merkwürdig, sondern auch äußerst instruktiv, denn es zeigt, daß die ursprüngliche Widerstandskraft des Kaninchens gegenüber einer Milzbrandinfektion sich nicht unmittelbar mit den bakteriolytischen Eigenschaften des Oviserums verbindet; die Widerstandskraft wird vielmehr von ihm unterdrückt und geht um so rascher unter. Das Oviserum zeigt eben das gleiche Verhalten wie die löslichen Produkte der Bakterien; in wiederholten Dosen verhüten sie weder noch heilen sie die Infektion, sondern beschleunigen sie. Läßt man aber zwischen Einverleibung der Bakterienprodukte und

Einimpfung des Virus eine gewisse Zeit verstreichen, so wirken sie als Schutzimpfung. Es ist klar, daß zwischen diesen Schutzimpfungen mit chemischen Produkten und unserem verzögerten Eintritt einer Milzbrandinfektion mittelst Oviserumeinspritzung ein inniger Zusammenhang besteht.

Intravenöse Injektionen von Oviserum sind nicht so harmlos wie die subkutanen; gebraucht man jedoch die Vorsicht, es in 10 Gewichtsteilen NaCl-Lösung zu verteilen, so ist der Effekt hinsichtlich der Verzögerung der gleiche wie bei hypodermatischer Einverleibung. Auch auf rektalem Wege habe ich es versucht, weil es mir von Interesse schien, ob das Oviserum in Kontakt mit der reichen Darmbakterienflora seine Eigenschaften, sei es durch Gerinnung sei es durch Aenderung seiner Zusammensetzung, verlieren würde. Injiziert man es in den Mastdarm, nach vorangehender Reinigung desselben mittelst eines Kochsalzklysters, so wird es selbst bei Opiumzusatz sofort wieder ausgestoßen; spritzt man aber 10 g Oviserum in 30—40 g Wasser verdünnt ein und zwar 10 cm hoch, so behalten es die Tiere gut bei sich. Ist man sicher, daß Absorption erfolgt ist, so wird nach Einimpfung des Virus der Ausbruch der Bacillenüberschwemmung des Blutes um 10 Tage aufgehalten. Ich möchte bemerken, daß Oviserum bei wiederholten Einspritzungen ins Rectum eine recht heftige Enterocolitis erzeugt, und rate daher nur zu einmaliger Anwendung von 10 ccm in Wasser verdünnt.

C. Einfluß der Höhe der Dosis von Oviserum.

Auf den ersten Blick sollte man annehmen, daß, je größer die angewandte Dosis Oviserum, um so größer die Verzögerung des Todes der Kaninchen ist; jedoch, dem ist nicht so: eine Gruppe Kaninchen erhalten innerhalb 2 Tagen 20 g eingespritzt, eine zweite Gruppe auf einmal 10 g, eine dritte nur 5 g. Nach Verlauf von 10 Tagen werden ihnen allen je 1 Tropfen einer 1-tägigen Milzbrandbouillon eingimpft. Alle Tiere starben danach 15 resp. 22 Tage später als die beiden Kontrolltiere, ohne daß die Höhe der Dosis einen bemerkenswerten Einfluß ausgeübt hätte; ja, das Kaninchen, welches als letztes das Kontrolltier um 22 Tage überlebte, war nur mit 5 g Oviserum behandelt worden.

Eine Reihe Kaninchen erhielt 5 g Oviserum eingespritzt, wurde dann 6 Tage in Ruhe gelassen, und erhielt nach diesem Termin bis zum 10. Tage 5 g; es zeigte sich, daß diese erneuten Impfversuche den Effekt einer Schutzimpfung ganz außerordentlich in Frage stellen. Ein Teil der Tiere starb nämlich nur 1—2 Tage nach dem Kontrolltiere, die Mehrzahl zu gleicher Zeit mit ihnen. Dagegen sahen wir oben, daß einmalige Einverleibung von 5 oder 10 g den Tod um 15—22 Tage aufhält.

Trotz aller Vorsicht passierte es mir einige Male, daß eine Einspritzung von 5—10 g bei den Kaninchen eine eiterige Infektion hervorrief, bald nur in Form eines einfachen zirkumskripten Abscesses, bald in Gestalt einer schweren Peritonitis; falls das Tier nicht dieser Komplikation erlag, zeigte sich ganz eklatant, wie durch die Infektion, mochte sie leicht oder schwer verlaufen, die wohltätige Wirkung des Oviserums zerstört wurde; in leichten Fällen starben die Kaninchen schon ganz kurze Zeit nach Einverleibung des Milzbrandvirus, in schweren Fällen bereits vor den Kontrolltieren.

Genügte eine Dosis von 5 g Oviserum bereits, um den Tod der

Tiere bedeutend zu verzögern, während bei 2,5 g nur ein Aufschub des Exitus letalis um 6—9 Tage eintrat, so war 1 g von kaum bemerkenswerter Wirkung. Unsere Versuchsreihe beweist, daß Oviserum bei Kaninchen die Milzbrandinfektion beträchtlich aufhält und die Inkubationsperiode verlängert, jedoch ihre Immunität nicht bis zu dem Grade steigert, daß sie nach Abschwächung oder Abtötung der Mikroben gegen jeden Eingriff gefeit wären. Gleichwohl vermögen wir die Widerstandskraft des Kaninchens auf folgendem Wege zu heben: Eine Reihe Kaninchen erhalten 5 oder 10 g Oviserum injiziert, und nach 10—12-tägiger Ruhepause wird ihnen 1 Tropfen Milzbrandvirus eingepflegt; nach weiteren 4 Tagen bekommen sie nochmals eine Injektion von 1 g Oviserum in Kochsalzlösung; der Eingriff wird noch ein drittes Mal in gleichen Abständen wiederholt. Der Erfolg ist der, daß bei einigen Tieren die wiederholte Oviseruminjektion den Ausbruch der Pyämie zu beschleunigen scheint, die überwiegende Mehrzahl widersteht aber diesem störenden Einfluß, ihre Lebensenergie wächst, sie bleiben am Leben. Wir besitzen noch 4 Kaninchen, die nunmehr 3 Monate die Kontrolltiere überlebt haben; wir dürfen wohl annehmen, daß in ihrem Organismus die Virulenz oder Vitalität der Milzbrandkeime definitiv erloschen ist¹⁾.

D. Umbildung und Ausscheidung des Oviserums.

Die geschilderten Experimente beweisen, daß einmalige Oviseruminjektion dem Kaninchen einen Schutz auf nicht mehr als 10—12 Tage verleiht, und daß derselbe einer Steigerung durch wiederholte Einspritzungen fähig ist. Logischerweise haben wir daher anzunehmen, daß nach den Injektionen ein wesentlicher Bestandteil im Organismus verbleibt, der die bakteriolytischen Fähigkeiten desselben steigert; er wird weiterhin im Austausch der Nährstoffe umgewandelt und schließlich ausgeschieden; alsdann besitzt das Tier zu seiner Verteidigung nur noch seine natürlichen Schutzkräfte. Injizieren wir einer Versuchsreihe Kaninchen 5 g Oviserum und lassen bis zur Einspritzung des Milzbrandvirus 30 anstatt 12 Tage verstreichen, so sehen wir bei fast allen Tieren ohne bemerkenswerte Verzögerung die Pyämie auftreten; die Tatsache spricht berechtigt dafür, daß der Schutz durch Oviserum erlischt, weil dasselbe im Innern des Organismus Veränderungen erfährt.

E. Deutung der Ergebnisse.

Nach alledem können wir uns nicht der Ueberzeugung verschließen, daß das Oviserum bei Kaninchen in Gestalt einer Schutzimpfung wirkt, freilich von zeitlicher Begrenzung, vorausgesetzt, daß es in das Plasma eindringen kann. Anfänglich, so lange es noch die Zirkulation durch-

1) In den 4 Monaten seit Niederschrift dieser Arbeit habe ich mich davon überzeugen können, daß die bloße Verzögerung des Todes der Kaninchen ihren Grund hat in schwer zu durchschauenden störenden Momenten während der Ruheperiode, wie leichte Verletzungen, Infektionen, Erkältungen. Genügt doch schon ein Zusatz einer 2-proz. Fluornatriumlösung, um die Zellernährung zu beeinflussen und die absolute Immunität zu verhindern. Fehlen dagegen alle störenden Momente, so widersteht das Tier der Einwirkung des Virus; dann wirkt das Oviserum nicht bloß hemmend, sondern schützt absolut sicher 12 Tage nach der Injektion gegen die Wirkung einer Impfung mit einem Tropfen Milzbrandgift. Erst seit meinen letzten, mit äußerst peinlicher Asepsis ausgeführten Versuchen habe ich verstehen können, warum Störungen der Ernährungsvorgänge während der „physiologischen Ruhe“ die absolute Schutzimpfung zu hindern im stande sind.

wandert und sich in den Körpersäften verteilt, trägt es auch nicht zur Steigerung der Widerstandskraft bei. Dann aber kommt eine Periode physiologischen Ausgleiches, welcher unsere albuminoïde Substanz ihre Umbildung zu einem lebenden Zellbestandteil verdankt; ist sie vorüber, so beginnt ein Zustand refraktären Verhaltens, welches doch ein Resultat der Zellernährung darstellt. So müssen wir uns erklären, das einer größeren Dosis keineswegs eine größere Immunität entspricht, und daß je nach den einzelnen Individuen die Dauer des refraktären Verhaltens variiert. Geben wir weiterhin zu, daß unter Assimilation nicht etwa die passive Einverleibung aus dem umgebenden Medium zu verstehen ist, sondern eine wirkliche Umformung in die eigene Substanz, je nach der speziellen Eigenart eines jeden Plasmas, so erklärt sich daraus, daß der Impfstoff vergänglich ist infolge Umbildung mit nachfolgender Ausscheidung der schutzverleihenden Substanz. Die Immunisierung mittelst Oviserum beim Kaninchen scheint also das Ergebnis eines Zellernährungsvorganges zu sein. Zugegeben, daß die schutzverleihende Substanz bakteriolytische Enzyme von besonderer Kraft enthält, werden wir auch von selbst darauf geführt, daß diese Eigenschaften, wenn sie zu einem integrierenden Teil des Plasmas werden, nicht verloren gehen, und daß weiterhin die bakteriolytische Fähigkeit im Organismus wächst, vermittelt dieser Summierung oder Synthese von Faktoren; damit erklärt sich die gefundene Steigerung im refraktären Verhalten. Mag unsere Hypothese auch auf den ersten Blick als etwas gekünstelt erscheinen, so stellt sie sich doch bei näherem Zusehen als natürliche, ungezwungene Folge der oben geschilderten Tatsachen dar.

Der Widerstand gegen eine Infektion, d. h. die natürliche Immunität, ist das Ergebnis der bakteriziden Tätigkeit der Plasmasubstanzen und Körpersäfte, also der ursprünglichen bakteriolytischen Kraft. Der Impfstoff steigert die letztere; alle *in vitro* bakteriolytisch wirkenden Substanzen müssen demnach, falls unsere Hypothese zu Recht besteht, als Schutzstoffe wirken oder den refraktären Zustand steigern, unter der Voraussetzung, daß sie ein integrierender Bestandteil des Plasmas werden. Alle diese Voraussetzungen treffen beim Oviserum zu.

III.

Eine Prüfung aller löslichen Zellplasmen, deren bakteriolytische Fähigkeit ich bereits *in vitro* nachgewiesen habe, würde eine äußerst zeitraubende Arbeit darstellen; sie dürfte überdies die mir zur Verfügung stehenden bescheidenen Mittel übersteigen. Ueber einige der genannten Zellplasmen stelle ich noch Versuche an; sie sind noch nicht abgeschlossen, erst für den Milzsaft bestehend, und auch hier noch unvollständig und lückenhaft.

Wirkung der Subkutaninjektion des Milzsaftes.

Die Wirkung ähnelt im allgemeinen der einer Oviseruminjektion. Große Dosen von 10—20 g und Impfung mit dem Virus 1—5 Tage nach den Injektionen haben keine Verzögerung des Todes zur Folge, ja beschleunigen ihn im Vergleich zur Lebensdauer der Kontrolltiere. Dagegen bewirkt eine einmalige Injektion von 10 g, sowie eine physiologische Ruhepause von 8 Tagen aufwärts vor Einimpfung des Virus einen beträchtlichen Aufschub, den ich hier noch nicht bestimmt präzisieren kann, weil die Serie geimpfter Kaninchen erst 6 beträgt, und ich aus einer so kleinen Zahl keine Schlüsse ziehen möchte. Ich be-

schränke mich für heute auf die Mitteilung, daß eine Verzögerung des Krankheitsausbruches erreicht werden kann.

IV.

Eine Maceration von Milzpulpa in destilliertem Wasser wirkt nicht so bakteriolytisch wie in 0,7—1,0-proz. Kochsalzlösung. Das Gleiche beobachtet man bei dem Nieren-, Leber-, Drüsengewebe u. s. w. Die Entdeckungen Buchners für das Blutserum haben also für alle Alexine der plasmatischen Substanzen Gültigkeit. Stellt man sich eine Maceration der Milzpulpa im Vakuum her und erneuert nach 3—4 Stunden die Macerationsflüssigkeit, so zeigt sie in vitro gegen Milzbrandstäbchen eine beträchtliche bakteriolytische Kraft, die bei einer dritten Maceration von längerer Dauer noch gesteigert ist. Dieses Faktum beweist, daß das Protoplasma Alexine in unerschöpflicher Menge enthält und läßt uns sogar annehmen, daß die Alexine nicht als isolierte und präformierte Körper existieren, sondern als eine Eigentümlichkeit, die der chemischen Konstitution der lebenden Materie anhaftet. Denn in dem Maße, wie ein Plasma sich auflöst, tritt auch seine bakteriolytische Fähigkeit, das Alexin, in die Erscheinung, und erschöpft sich bei Luftabschluß erst zugleich mit der ganzen löslichen Substanz, die das Plasma enthält. Wäre es uns also möglich, auch uns einen Teil dieser enormen Verteidigungsreserven, auf die der Organismus zählen kann, löslich zu machen, so würden wir schon damit die natürliche Immunität steigern können. Dieser theoretische Gedankengang brachte uns auf folgende Versuche:

Zwei männliche Kaninchen, annähernd gleichen Gewichts und gleicher Haarfarbe, die aus demselben Wurf stammten, erhielten eine Injektion von 5 g 0,75-proz. Kochsalzlösung an 2 aufeinanderfolgenden Tagen; 2 andere von gleicher Beschaffenheit erhalten eine Injektion einer 3-proz. NaCl-Lösung; am 4. Tage werden alle Tiere mit Milzbrandvirus geimpft und sterben ohne eine bemerkenswerte Verzögerung. Das gleiche negative Resultat erhält man, wenn die injizierte Wassermenge auf 20 g täglich gesteigert wird. Schließlich injizierten wir unter gleichen Voraussetzungen 2 Tieren je 50 g einer 0,75-proz. Kochsalzlösung und 2 weiteren das gleiche Quantum in 3-proz. Konzentration. Nach genau 24 Stunden wurden sie mit dem Virus geimpft und zeigten eine sichtliche Verzögerung des Krankheitsausbruches um 10—14 Stunden gegenüber den Kontrolltieren. Das Experiment wird in gleicher Weise wiederholt mit der einzigen Modifikation, daß auf einmal 100 g einer 0,75- resp. 3-proz. Salzlösung injiziert wurden, in der Annahme, daß auch hier vielleicht eine Verzögerung sich bemerkbar machen würde.

Hierbei stellte sich nun ein bemerkenswertes Faktum heraus, das ohne eine Nachprüfung kaum glaubhaft erscheinen dürfte: die geimpften Kaninchen starben nicht an Pyämie, während die Kontrolltiere innerhalb 42—45 Stunden nach der Impfung erlagen. — Wiederholte Beobachtungen dieses außerordentlich merkwürdigen Phänomens haben uns gezeigt, daß 1) die Konzentration der Chlornatriumlösung keinen Einfluß auf sein Erscheinen ausübt, und 2) daß man die Kochsalzmenge auf 100 g steigern muß, um 1 kg des Versuchstieres nach Ablauf von 24 Stunden gegen einen Tropfen Milzbrandgift immunisieren zu können.

Die immunisierende Wirkung der Salzlösung, die mächtig genug ist, um die Lebensfähigkeit der eingepfunden Keime zu vernichten, ist äußerst flüchtig: bereitet man 6 Kaninchen mittelst der Injektionen vor und

impft das Virus am 2.—6. Tage ein, so schwindet die Erscheinung graduell innerhalb 24—48 Stunden.

Bekanntermaßen erzeugen Kochsalzeinspritzungen eine Phagocytose; jedoch ist das Phänomen damit noch nicht genügend zu erklären. Die bakterizide Kraft des Kaninchens steigt nach Kochsalzinjektion so stark an, daß es sich dem Milzbrandbacillus gegenüber wie ein refraktäres Tier verhält. Es scheint demnach, als ob diese Injektionen auf die plasmatischen Substanzen so eingewirkt haben, wie bei Macerationen der Milzpulpa, nämlich durch Lösung einer hinreichenden Quantität von Reservealexinen, die nun plötzlich in Wirksamkeit treten und dadurch die Defensiv- oder bakterizide Kraft des Organismus steigern.

Schlußfolgerungen.

I. Unter Oviserum verstehen wir das Produkt aus einer Lösung von Hühnereidotter in Eiweiß; diese Mischung erreicht in einem Zeitraum von 20—30 Tagen eine so starke bakteriolytische Fähigkeit, daß sie ein Viertel ihres Gewichts einer Milzbrandkultur verdaut, ohne daß damit ihre Kraft erschöpft wäre; vielmehr reicht dieselbe noch für einen 2. und 3. Verdauungsversuch aus.

II. Subkutane Injektion von 5—10 g Oviserum 3 Tage lang nacheinander und Impfung mit einem Tropfen Milzbrandbacillen am 4. Tage beschleunigt den Tod von Kaninchen gegenüber der Lebensdauer nicht vorbehandelter Kontrolltiere. Dagegen verzögert einmalige Injektion von 5 g Oviserum pro kg des Körpergewichts mit nachfolgender Milzbrandimpfung am 10.—12. Tage den Tod der Tiere um 9—17 Tage.

III. Intravenöse Injektion von 5 g Oviserum in 45 g Aq. destillata hat den gleichen Effekt; Klystiere von 10 g Oviserum in 40 g Wasser verzögern, ihre Resorption vorausgesetzt, den Ausbruch der Pyämie.

IV. Eine Dosis von 5 g Oviserum auf 1 kg Kaninchen reicht hin, um den Krankheitsausbruch zu verzögern, größere Dosen vergrößern die Inkubationsperiode nicht; 2,5 g verzögern den Tod der Tiere um 5—9 Tage. 1 g übt keine sichere Wirkung aus.

V. Wird der normale Ablauf der Vorgänge in dem Organismus des mit 5 g vorbehandelten Kaninchens während der physiologischen Ruheperiode zwischen Injektion und Einverleibung des Giftes gestört, so wird auch die immunisierende Wirkung des Oviserums herabgesetzt oder aufgehoben.

VI. Die immunisierende Wirkung des Oviserums tritt erst hervor, wenn es dem Plasma der Organe mittelst eines Assimilationsprozesses einverleibt ist; dabei summiert sich seine bakteriolytische Kraft auf Grund einer physiologischen Synthese zur Kraft der Alexine, die von vornherein im Plasma vorhanden sind. Dieser Prozeß scheint der Grund zu sein, weshalb die Kaninchen eine größere Widerstandsfähigkeit gegen den Milzbrand erlangen.

VII. Eine Maceration der Milzpulpa in 1-proz. NaCl-Lösung übt beim Kaninchen einen ähnlichen Effekt aus wie das Oviserum.

VIII. Die Injektion von 50 g einer 0,75-proz. Kochsalzlösung auf 1 kg Kaninchen mit nachfolgender Einimpfung eines Tropfens Milzbrandgiftes nach 24 Stunden verzögert den Tod der geimpften Tiere um 10—14 Stunden.

Die Injektion von 100 g NaCl-Lösung mit nachfolgender Milzbrandimpfung nach 24 Stunden hat das ganz eigenartige Phänomen zur Folge, daß die Tiere nicht an Pyämie sterben. Die Wirkung der Salzlösung ist aber so flüchtig, daß sie innerhalb 24—40 Stunden verschwindet.

Nachdruck verboten.

Ueber das Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden.

Ein Beitrag zur Frage der natürlichen Immunität.

[Aus der Kgl. Universitäts-Kinderklinik zu Breslau.]

Von Dr. **Richard Weigert**, Assistenten der Klinik.

Die natürliche Widerstandskraft des menschlichen Organismus gegen das Eindringen pathogener Bakterien beruht auf seiner Fähigkeit, diese Bakterien zu vernichten. Nach der heute am weitesten verbreiteten Ansicht ist diese natürliche Schutzkraft bedingt durch die Produktion eiweißartiger Körper, die im stande sind, die Bakterien unschädlich zu machen.

Dieser Anschauung gegenüber behaupten Baumgarten (1) und Fischer (2), daß die natürliche Immunität des Menschen durch die Abhängigkeit der Bakterien von gewissen chemisch-physikalischen Gesetzen bedingt sei. Beim Eindringen in den menschlichen Körper würden die Spaltpilze durch osmotische Einflüsse schwer geschädigt, gleichzeitig beständen sehr ungünstige Bedingungen für die zu ihrem Fortbestehen erforderlichen Assimilationsvorgänge; der menschliche Körper sei ein ungeeigneter Nährboden für die Bakterien.

Die Spaltpilze sind abhängig von dem Nährboden, auf dem sie sich befinden. Sie vermehren sich, wenn sie sich auf einem guten Nährboden befinden; sie vermehren sich nicht oder gehen sogar zu Grunde, wenn sie auf einen ungünstigen Nährboden gebracht werden.

Ein Nährboden ist als gut zu bezeichnen, wenn er Wasser, Salze und Nährstoffe (stickstoffhaltige Körper) in einer solchen Verteilung enthält, daß die Spaltpilze im stande sind, in ihm die für ihr Fortbestehen erforderliche osmotische Spannung zu behalten und aus ihm ihr Nährmaterial zu beziehen.

Unter ungünstigen Nährböden versteht man dagegen diejenigen, die entweder weniger stickstoffhaltige Körper besitzen, als die Spaltpilze für ihr Fortkommen brauchen, oder die die Salze nach Art und Menge und das Wasser in so großer oder so minimaler Menge enthalten, daß die auf sie gebrachten Spaltpilze nach bestimmten biochemischen Gesetzen durch Plasmolyse oder Plasmoptyse der Wachstumshemmung oder gänzlich der Vernichtung anheimfallen.

Die Lebens- und Wachstumsmöglichkeit der Spaltpilze ist noch weiterhin dadurch festgelegt, daß sie an bestimmte Temperaturen und an eine bestimmte Reaktion des Nährsubstrates gebunden ist. Ferner stellen einzelne Arten noch bestimmte, sozusagen arteigentliche Bedingungen an „ihre“ Nährböden, auf die einzugehen sich bei diesen allgemeinen Betrachtungen erübrigt.

Die Bedeutung, die die einzelnen Bestandteile der Nährböden und das Erhaltenbleiben dieser oder jener günstigen Bedingung (Temperatur, Reaktion, Luft, Licht etc.) für das Fortkommen der Spaltpilze besitzen, ist bereits in einer großen Reihe experimenteller Arbeiten geprüft worden. Insbesondere war die Konzentration der Nährböden, soweit sie durch ihren Salzgehalt bedingt ist, der Gegenstand zahlreicher Versuche. Auch das menschliche Serum ist in der Richtung geprüft worden, inwieweit es vermöge seines Salzgehaltes einen günstigen (oder

ungünstigen) Nährboden für Spaltpilze liefert, da durch lange Zeit vermutet wurde, daß die immunisierende Kraft des Serums lediglich durch seinen Gehalt an Salzen verschiedener Menge und Art bedingt werde.

So sprach Roser (3) schon 1881 aus: „Die Immunität vollkommen gesunder Tiere und Pflanzen gegenüber den Infektionspilzen beruht meiner Auffassung nach:

1) Auf dem relativen Salzgehalt ihrer Flüssigkeit“ An anderer Stelle sagt er: „Nur derjenige Schmarotzer oder Infektionspilz kann im tierischen Körper haften, der zuvor an den Salzgehalt des letzteren „angepaßt“ ist. Jede Zelle muß schrumpfen, wenn sie aus einem salzarmen Medium (z. B. gutem Trinkwasser) direkt in Blutserum übertragen wird! Die Gesetze der Osmose fordern das!“

Bekannt sind die Arbeiten Fischers über Plasmolyse und Plasmotyse, Degenerationserscheinungen, die durch den Salzgehalt der Nährmedien bedingt sind.

Demgegenüber stehen die Ansichten Buchners (4). Nach B. kann die hohe Konzentration der Nährböden die Spaltpilze nur dann ungünstig beeinflussen, wenn das neue Substrat keine Nährstoffe oder direkt schädliche Stoffe enthalte.

B. lehnt es auch ab, daß die höhere Konzentration der Körpersäfte einen schädigenden Einfluß auf die Bakterien habe, da es ihm gelang, in viel höheren Konzentrationen als sie die Körperflüssigkeiten besitzen (bis 40-proz. Zuckerlösungen) noch Wachstum zu erzielen, wenn nur genügend N-haltiges Material zugesetzt wurde.

Aus einer anderen Reihe in Gemeinschaft mit Fr. Voit angestellter Versuche schließt B.: „Wie schädlich allerdings die kristallisierenden Verbindungen in höherer Konzentration auf Bakterien wirken können, was sich aus den diosmotischen Eigenschaften ohne weiteres erklärt. Zugleich aber ergibt sich, daß von Seite der kolloiden Substanzen, wohin auch die Albuminate des Serums gehören, eine derartige Wirkung, selbst bei höherer Konzentration, nicht stattfindet. Es ist daher ganz unmöglich, die bakterientötenden Eigenschaften des Blutes durch bloße Konzentration erklären zu wollen.“

In ferneren von Buchner mit M. Orthenberger angestellten Untersuchungen zeigten sich, daß das Serum durch Dialyse gegen Wasser seine Wirksamkeit verliere, während es nach der Dialyse gegen 0,75-proz. Kochsalzlösung wirksam bleibt. Im Dialysate ist kein wirksamer, bakterientötender Stoff nachzuweisen. Es kann somit die Wirksamkeit bei der Dialyse gegen Wasser nur durch den Verlust des Salzes bedingt sein.

Dasselbe beweist die ganz verschiedene Wirkung einer Verdünnung des Serums mit Wasser und andererseits mit 0,75-proz. Kochsalzlösung. Während im ersteren Falle die Wirksamkeit auf Bakterien erlischt, bleibt sie in letzterem fast unverändert.

B. und O. schließen hieraus: Die Salze haben an und für sich zur Bakterienvernichtung keine direkte Beziehung; sie wirken nur insofern, als ihr Vorhandensein eine unerläßliche Bedingung für die Beschaffenheit der Albuminate des wirksamen Serums darstellt. Die Eiweißkörper sind daher selbst als die Träger der bakterientötenden Wirksamkeit zu betrachten.

Neuerdings hat v. Lingelsheim (5) durch Untersuchungen, die sich gegen die Versuche und Theorien von Baumgarten, Jetter, Walz und Fischer richten, an verschiedenen hochkonzentrierten Salz-

lösungen und an Seris zu zeigen gesucht, daß die Ursache der bakteriziden Wirkung des Serums nicht in osmotisch-nutritiven Störungen zu suchen sei, daß vielmehr in den betreffenden Flüssigkeiten ein bakterizid wirkender fermentartiger Körper vorhanden sein müsse.

Auch die Beweiskraft dieser Experimente wird aus Baumgartens Schule von Finckh (6) bekämpft.

Das Studium aller dieser Verhältnisse zeigt, um welche komplizierten Bedingungen es sich bei der Beurteilung der Einzelresultate der angestellten Experimente handelt.

Die Nährböden, die künstlichen wie die natürlichen, sind so komplizierte Mischungen, daß die Bedeutung ihrer einzelnen Bestandteile für die Vegetationsmöglichkeit der Bakterien nicht ohne weiteres erhellt. Zudem lassen unter solchen Bedingungen angestellte Experimente oft mehrfache Deutungen zu.

Es wurden daher von mir Experimente mit hochkonzentrierten Nährböden angestellt, bei denen zwar für einen genügenden Gehalt an stickstoffhaltigem Nährmaterial und an Salzen, sowie für eine geeignete Reaktion gesorgt war, bei denen jedoch ihr quantitatives Verhältnis zueinander vernachlässigt wurde; dagegen wurde Gewicht gelegt auf den Wassergehalt dieser Nährböden.

Die Bedeutung der Anwesenheit einer genügenden Menge Wassers für die Vegetationsmöglichkeit von Spaltpilzen wurde schon früher hervorgehoben. Die Wichtigkeit dieses Faktors ist stets genügend gewürdigt worden und ist nicht nur aus Experimenten, sondern auch aus mannigfachen klinischen Erfahrungen hinlänglich bekannt.

Bakterienzüchtungen auf künstlichen Nährböden, deren Wassergehalt bestimmt und bis zu einem gewissen Grade herabgesetzt wurde, wurden meines Wissens bisher nur von L. Wolf (7) im hygienischen Institut der Universität Würzburg ausgeführt. Wolf stellte seine Untersuchungen, soweit ersichtlich, mit der Tendenz an, die Widerstandsfähigkeit der Bakterien unter den erwähnten Bedingungen festzustellen, lediglich als Beitrag zur Biologie der Bakterien, ohne aber irgendwelche Schlüsse für die Frage der natürlichen Schutzkräfte des Menschen aus den gewonnenen Resultaten zu ziehen.

Als Nährböden benutzte Wolf Gelatine, Brot, Kartoffelmehl, Fleischpulver und Cakes. Aus diesem Material wurden nach Herstellung der erforderlichen alkalischen Reaktion durch Zusatz von Natronlauge 5 verschiedene Nährsubstrate hergestellt. Der Wassergehalt wurde durch ein besonderes Trockenverfahren, das aber nur bei der Bereitung der Nährgelatine ausführlich mitgeteilt wird, so modifiziert, daß von jedem Material vier verschiedene Konzentrationen (von Gelatine in einem Falle fünf, von Cakes nur drei Konzentrationsgrade) hergestellt wurden. Der Wassergehalt der einzelnen Nährböden wurde jedesmal durch Trocknen im Wärmeschrank festgestellt.

Die Resultate der Versuche sind absolut einheitlich. Wolf faßt sie selbst folgendermaßen zusammen: „Aus diesen 8 Tabellen geht hervor, daß Bakterien bei 50 Proz. Trockensubstanz auf unseren gebräuchlichen Nährböden meist noch wachsen, bei 60 Proz. Trockensubstanz aber versagen.“

Als Testobjekte hatte Wolf gewählt *Bac. pyocyaneus*, *B. typhi*, *Vibrio cholerae*, *B. prodigiosus*, *B. vulgaris*, *Micr. pyogenes* et *aureus* und *B. anthracis*. In dem Verhalten der einzelnen Art gegenüber den hochkonzentrierten Nährböden scheinen dem

Verf. geringe Differenzen hervorzutreten. Wolf sagt darüber: „Am besten scheinen — auch noch bei stärkerer Konzentration des Nährbodens — die farbenbildenden Arten zu gedeihen. Doch mag zum Teil die häufigere Feststellung ihres Wachstums bei unseren Versuchen durch ihre leichtere Erkennbarkeit bedingt sein.“

Bei der Durchsicht der mitgeteilten Tabellen fällt im Gegensatz zu dieser Bemerkung Wolfs auf, daß gerade auf dem höchstkonzentrierten Nährboden, der zur Verwendung kam. — Gelatine mit 26,4 Proz. Wassergehalt — *B. typhi* und *Bac. anthracis*, also 2 nicht farbstoffbildende Arten noch in Spuren wachsen, während die übrigen Arten ausfielen.

Wären diese Resultate Wolfs einwandsfrei, so wäre damit die ganze Frage der Bedeutung des Wassergehaltes der Nährböden für die natürliche Immunität des Menschen schon entschieden. W. fand bei einem Wassergehalt von ca. 50 und 40 Proz. der benutzten künstlichen Nährböden noch durchschnittlich gutes Wachstum aller untersuchten Bakterienarten; je 2 exquisit pathogene Bakterienarten: *B. typhi* und *B. anthracis* kamen, wenn auch nur in Spuren, noch auf einem Nährboden fort, der nur 26,4 Proz. Wasser enthielt. Da es menschliche Organe, in denen sich Bakterien ansiedeln können, mit so geringem Wassergehalt nicht gibt, so würde zu schließen sein, daß die Vegetationsmöglichkeit der Bakterien — soweit sie durch den Wassergehalt des Nährsubstrates bedingt ist — eine so breite ist, daß von diesem Gesichtspunkte aus dem menschlichen Körper niemals Abwehrmaßregeln gegen die Invasion von Bakterien zur Verfügung stehen können. Daß dem nicht so ist, werden die folgenden Ausführungen zu zeigen haben.

Wolf hat augenscheinlich ein Wachstum von Bakterien nur auf, nicht aber in hochkonzentrierten Nährböden gesehen. Dieses ist aber ein wesentlicher Unterschied. W. gibt bei dem Bericht seiner Versuche stets an: „Ueber das Wachstum obengenannter Spaltpilze auf diesen Gelatinenährböden . . . auf diesen Nährböden . . . auf diesem Nährsubstrat . . . über das Wachstum darauf s. Tab. etc.“ Nie wird von dem Verf. differenziert, was wir darunter zu verstehen haben. Es ist nicht angegeben, ob es sich nur um ein Oberflächenwachstum oder ob es sich auch um ein Wachstum in oberflächlichen oder tiefen Schichten gehandelt habe. Hieraus ist zu schließen, daß es sich stets nur um Oberflächenwachstum gehandelt habe, oder daß wenigstens der Ausfall des Versuches als positiv auch dann bezeichnet wurde, wenn nur Oberflächenwachstum erzielt worden war.

In gleicher Weise bestehen keine Angaben darüber, ob die Nährböden gegen den Zutritt von Luft genügend sicher abgeschlossen waren. Da Verf. hierüber nichts erwähnt, so ist anzunehmen, daß dieser Faktor bei der Anstellung und bei der Beurteilung der Versuche vernachlässigt worden ist.

Berücksichtigt man diese Momente, so verschieben sich die Resultate, die W. erhalten hat, sogleich ganz wesentlich.

Greift man z. B. das Plattenverfahren, dessen sich Wolf wohl bei den Gelatinenährböden bedient haben dürfte, heraus, so wird die Größe der vernachlässigten Fehlerquelle sogleich ersichtlich. An dem Deckelteil jeder frisch gegossenen Platte erscheint Kondenswasser; dieses und die von außen immer in gewissen Grenzen leicht zutretende atmosphärische Luft, die außerdem auch noch an sich der Platte Feuchtigkeit zuführt, bewirkt, daß der Raum zwischen der Oberfläche des Nähr-

substrats und dem Deckel der Platte gewissermaßen zu einer feuchten Kammer umgewandelt wird. Von dieser Feuchtigkeit wird natürlich ein Teil auch den obersten Schichten — wenigstens aber der Oberfläche des Nährmediums — zugeführt, und so kommt es, daß Oberfläche und oberste Schichten des betreffenden Nährmediums einen höheren Wassergehalt besitzen, als die tieferen Schichten desselben Nährbodens.

Es mußte also in einer neuen Versuchsanordnung darauf geachtet werden, daß die Wasserverteilung in allen Schichten des Nährsubstrats möglichst gleich war. Dies suchte ich dadurch zu erreichen, daß an Stelle von Platten flache Fläschchen (nach Soyka) zur Aufnahme des Nährsubstrats benützt wurden. Diese wurden zunächst mit Watte zugestopft, dann mit Paraffin abgedichtet und schließlich noch mit einer Gummiklappe abgeschlossen.

Da sich auch bei diesen Vorsichtsmaßnahmen nicht ausschließen läßt, daß die Oberfläche bezüglich des Wassergehaltes sich anders verhält als die tieferen Schichten, so wurde mit besonderer Sorgfalt versucht, festzustellen, inwieweit alle oder nur die oberen Schichten oder gar nur die Oberfläche am Bakterienwachstum beteiligt waren. Traf nur der letzte Fall zu, so betrachtete ich den Versuch als negativ.

Aus denselben Ursachen konnten natürlich nur durchsichtige Nährböden gewählt werden. Es wurde durchweg Gelatine verwendet. Der Versuch, Agar-Agar zu verwenden, scheiterte daran, daß die aus diesem Material in sehr hohen Konzentrationen hergestellten Nährböden nur auf Eis oder gar nicht mehr zum Erstarren zu bringen waren.

Die Nährböden wurden folgendermaßen zubereitet: In 100 g Fleischwasser mit einem Gehalt von 1 Proz. Pepton sicc. und 0,5 Proz. Kochsalz wurden 10, 30, 50, 100 g Gelatine im Wasserbade bei 50–60° C gelöst. Hierauf wurde mit Normalnatronlauge soweit abgestumpft, daß gegen Phenolphthaleïn eine Acidität von 3 ccm Normalnatronlauge pro Liter entstand. Danach wurde das Ganze im Salzwasserbade aufgekocht, durch Faltenfilter im Heißwassertrichter filtriert, eine halbe Stunde im Dampftopf sterilisiert und dann schnell abgekühlt.

Da die mit der gleichen Menge Gelatine und Fleischwasser hergestellten Nährböden bei den Trockenbestimmungen noch nicht genügend hohe Trockenwerte ergaben, so wurde sie vor der Neutralisation im offenen Becherglase auf dem Wasserbade noch auf $\frac{3}{4}$, $\frac{2}{3}$ und $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Quantums eingeengt. Dann wurde die Bereitung des Nährbodens in gleicher Weise, wie oben beschrieben, zu Ende geführt.

Die Trocknung der Nährgelatine zum Zweck der Bestimmung des Wassergehalts wurde nach der Sterilisation im Wärmeschrank bei 90–100° C vorgenommen. Nach 3 Tagen wurde gewogen und dann je nach Bedarf mehrmals 24 Stunden bis zur Gewichtskonstanz nachgetrocknet.

Als Testobjekte wurden zunächst benützt: *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Staphylococcus pyogenes albus*, *B. pyocyaneus*, *B. typhi*, *B. coli communis* und *Proteus vulgaris*, später noch der Löfflersche Diphtheriebacillus. Von jeder Bakterienart wurden in jedem Versuch 3 Platten angelegt.

Versuch I.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 8,99 Proz.

Nach 48 Stunden ist in allen Schichten des Mediums reichliches Wachstum von *Staphyl. pyog. aur.* und *alb.*, *B. typhi* und *coli*, *Proteus vulgaris* und *B. pyocyaneus* zu konstatieren.

Versuch II.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 14,95 Proz.

Nach 48 Stunden in allen Schichten der Gelatine ähnliches Wachstum der auch in Versuch I verwendeten Bakterien.

Versuch III.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 17,113 Proz.

Nach 48 Stunden wachsen die auch in Versuch I verwendeten Bakterien in den oberflächlichen und tieferen Schichten reichlich. *B. pyocyaneus* wächst in allen drei Fläschchen zwar in allen Schichten, jedoch ist sein Wachstum spärlicher als das der anderen verwendeten Bakterienarten.

Versuch IV.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 27,6 Proz.

	Staph. aureus	Staph. albus	B. pyocyan.	Proteus vulgaris	B. coli comm.	B. typhi
Nach 1 Tage	steril	steril	steril	steril	steril	steril
" 2 Tagen	spärlich*	spärlich	spärlich*	steril	spärlich	spärlich*
" 3 "	reichlich	reichlich	reichlich	spärlich	reichlich	reichlich
" 5 "	"	"	reichlich**	reichlich	"	"

* Die Kolonien sind wenig scharf begrenzt.

** Die Kolonien sind gelbgrün gefärbt und verflüssigen die Gelatine.

Da das Wachstum der einzelnen Bakterienarten auf Nährböden mit dieser Konzentration nicht mehr so typisch ist, daß die Kolonien ohne weiteres zu erkennen sind, so werden am 3. Tage aus je einem Kontrollfläschchen Ueberimpfungen auf die gebräuchliche sogenannte 10-proz. Nährgelatine (eigentlicher Gehalt an Trockensubstanz 9 Proz.) vorgenommen. Auf diesem Nährboden wuchsen nach 24 Stunden von allen verwendeten Bakterienarten typische Kolonien in reichlicher Menge.

Versuch V.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 31,9 Proz.

	B. coli	Proteus	Staph. aureus	Staph. albus	Pyocyaneus	B. typhi
Nach 24 Stdn.	steril	steril	steril	steril	steril	steril
" 48 "	einzel. Kolon.*	einzel. Kolon.	einzel. Kolon.	einzel. Kolon.	sehr wen. Kolon.	0**
" 5 Tagen	reichlich	reichlich*	reichlich*	reichlich*	reichlich*	sehr wen. Kolon.*

* In allen Schichten.

** In allen drei angelegten Fläschchen.

Bei den aus den Fläschchen des Versuches zur Kontrolle auf 10 Proz. Nährgelatine abgeimpften Kulturen finden sich nach 24—48 Stunden viele typische Kolonien. Die aus den Kulturen des *B. typhi* angelegten Kontrollplatten auf 10 Proz. Gelatine bleiben steril.

Versuch VI.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 35,14 Proz.

Es wurden dieselben Bakterienarten wie in den vorhergehenden Versuchen benützt.

In allen angelegten Kulturen zeigen sich nach 2—8 Tagen spärliche Kolonien. Diese liegen jedoch nur auf der Oberfläche, einzelne anscheinend auch in den der Oberfläche nahe gelegenen Schichten der Gelatine.

Versuch VII.

Nährgelatine mit einem Trockengehalt von 40,7 Proz.

Bakterienarten wie in den Versuchen I—VI.

In allen beschickten Nährböden findet sich spärliches Oberflächenwachstum. In der Kultur des *Bac. coli communis* zeigt sich in einem der drei angelegten Fläschchen auch in den der Oberfläche nächstliegenden Schichten hier und da eine Kolonie.

Versuch VIII.

Es wurden Gelatinenährböden in 4 Konzentrationen hergestellt: A = 10,8 Proz., B = 30,9 Proz., C = 33,2 Proz., D = 35,4 Proz. Trockensubstanz. In alle Fläschchen wurde je eine große Oese des *Bac. diphtheriae* (Löffler) verimpft.

A zeigte nach 24 Stunden zahlreiche Kolonien in allen Schichten.

B und C nach 72 Stunden vereinzelte Kolonien in allen Schichten.

D: Die Nährböden sind noch nach 3 Wochen steril.

Aus A, B und C werden einzelne Kolonien auf Serumplatten verimpft. — Die aus A auf Serum wachsenden Kolonien sind nach Lagerung und Form typisch; die Bacillen nehmen die Neisserische Doppelfärbung an.

B und C: Die Bacillen der Serumplatten zeigen vielfach Involutionsformen; Doppelfärbung ist nicht zu erzielen.

Versuch IX.

Der *Bac. pyocyaneus* wurde wegen seiner Fähigkeit, Farbstoff zu produzieren, so daß sein Wachstum schon makroskopisch leicht nachgewiesen werden kann, auf 12 Gelatinenährböden von verschiedener Konzentration verimpft.

Proz. Trocken-substanz	19 Proz.	23,5 Proz.	24,3 Proz.	26 Proz.	28,5 Proz.
Nach 1 Tage	0	0	0	0	0
" 2 Tagen	Oberflächliche und angrenzende Schichten		Oberfläche	0	0
" 3 "	In allen Schichten		In allen Schichten	Oberfläche	0
" 4 "	do.	do,*	do.	Oberfläche und angrenzende Schichten	Oberfläche
" 5 "	do.*	do.*	do.*	In allen Schichten	spärlich in allen Schichten
" 6 "	do.*	do.*	do.	do.*	spärlich*

Proz. Trocken-substanz	31,3 Proz.	32,8 Proz.	33 Proz.	34 Proz.	35 Proz.	36,7 Proz.	41 Proz.
Nach 1 Tage	0	0	0	0	0	0	0
" 2 Tagen	0	0	0	0	0	0	0
" 3 "	0	0	0	0	0	0	0
" 4 "	Oberfläche	Oberfläche	0	0	0	0	0
" 5 "	spärlich in allen Schichten	Oberfläche	0	0	Oberfläche	0	0
" 6 "	spärlich	Oberfläche*	0	0	do.	0	0

* Verflüssigung der Oberfläche.

Versuch X.

Es wurde nunmehr noch der Versuch gemacht, den *Bac. tuberculosis* auf hochkonzentrierten Nährböden zu züchten. Da die Tuberkelbacillen besonders strenge Anforderungen an die Zusammensetzung des Nährbodens stellen, war von vornherein ersichtlich, daß ein etwaiges anderes Verhalten für unsere Frage keine entscheidenden Daten liefern konnte. Zunächst mußte auf ein Wachstum der Bacillen in tieferen Schichten verzichtet werden.

Zur Verwendung kam Glycerinagar von 9 und 15 Proz. und Glycerinagar von 2,4, 4,5 und 7 Proz. Trockensubstanz.

In keinem der Nährböden mit 7 Proz. Trockensubstanz kamen die Tuberkelbacillen fort, dagegen bedeckte sich die Oberfläche der übrigen allmählich mit einem dicken Ueberzuge von Tuberkelbacillen. — Da es sich in jedem Falle nur um Oberflächenwachstum handeln konnte, wurde diese Versuchsreihe abgebrochen.

Die angestellten Experimente ergaben:

1) Die geprüften 6 Bakterienarten: *B. coli*, *B. typhi*, *B. pyocyaneus*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus pyog. aureus* und *albus* wachsen in Nährböden bis zu einem Trockengehalt von 31,9 Proz. mehr oder weniger gut in allen Schichten des Nährsubstrates.

2) Dieselben Bakterienarten zeigen auf Nährböden mit einem Trocken-

gehalt von 33 bis zu 41 Proz. nur Oberflächenwachstum, oder sie kommen gar nicht mehr fort.

3) Der in einer besonderen Versuchsreihe geprüfte *B. diphtheriae* (Löffler) wächst in allen Schichten einer Nährgelatine von 33,2 Proz. Trockensubstanz, kommt aber weder in noch auf einem Nährboden von 35,4 Proz. Trockensubstanz fort.

4) Auf Nährböden, deren Trockensubstanz sich dem Werte 33 Proz. nähert, tritt eine allmählich zunehmende Wachstumshemmung ein.

5) Von dem verwendeten höchstkonzentrierten Nährboden (41 Proz. Trockensubstanz) wurde eine Aschenbestimmung gemacht. Sie ergab 1,7 Proz. Gesamtasche. Da es Buchner, v. Lingelsheim u. a. gelungen ist, Bakterienwachstum noch in Salzlösungen von größerer Konzentration zu erzielen, so kann der in meinen Versuchen konstatierte Ausfall des Wachstums in Nährböden von über 33 Proz. Trockensubstanz nicht durch den Salzgehalt der Nährböden bedingt sein.

Alle 7 geprüften Bakterienarten können also noch gedeihen in Nährsubstraten mit einem Trockengehalte von ca. 32 Proz. i. e. einem Wassergehalt von ca. 68 Proz., sie gedeihen nicht mehr in einem Nährsubstrat von ca. 35 Proz. Trockensubstanz i. e. einem Wassergehalt von ca. 65 Proz. Die Schwellenwerte der Wachstumsmöglichkeit sind demgemäß für die geprüften Bakterienarten auf einen gleichen, engen Raum zusammengedrängt. Die Schwierigkeit, Nährböden von bestimmtem Trockengehalt herzustellen, hat es nicht erlaubt, diese Grenze noch enger zu ziehen und festzustellen, ob auch noch innerhalb der offenbleibenden 3 Proz. eine Uebereinstimmung unter den verschiedenen Bakterienarten besteht.

Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß den einzelnen Arten besondere Eigenschaften — Arteigentümlichkeiten — zukommen, die es den einen noch erlauben, in Nährböden zu wachsen, deren Wassergehalt um 1—3 Proz. höher oder niedriger ist, während andere Arten durch dieses Plus oder Minus des Wassergehaltes ihrer Nährböden schon geschädigt oder abgetötet werden.

Kehren wir nunmehr zu der eingangs gestellten Frage zurück: Ist der Wassergehalt des menschlichen Organismus ein solcher, daß dadurch dem Menschen eine natürliche Schutzkraft gegen die Invasion von Bakterien verliehen ist, so werden wir nach dem Ergebnis der mitgeteilten Experimente fordern müssen, daß der Wassergehalt des gesunden Menschen nicht höher als zwischen 65 und 68 Proz. liegen dürfe, damit eine Schutzwirkung eintreten kann.

Die Reihe der über den Wassergehalt des gesunden Menschen angestellten und verwertbaren Untersuchungen ist nicht groß. Einzelne Arbeiten beschäftigen sich nur mit Analysen einzelner Organe, andere mit denen kranker Organe oder mit den Analysen der Organe kranker Menschen.

Fast alle diese Untersuchungen liegen der Zeit nach weit zurück, und nur über den Wassergehalt des gesunden neugeborenen Menschen liegen Zahlen aus den letzten Jahren von Camerer (jun.) und Söldner vor.

Alle vorliegenden, von verschiedenen Seiten stammenden Zahlen stimmen gut überein, nur die von Bischoff (8) ergaben sowohl für den Erwachsenen (58,5 Proz. Wassergehalt) wie für den Neugeborenen (66,4 Proz. Wassergehalt) so niedrige Wasserwerte, wie sie nach ihm kein anderer Autor festgestellt hat.

Nach Herrmann (9) beträgt der Wassergehalt des gesunden, erwachsenen Menschen 63 Proz., nach Volkmann (10) 65,7 Proz., nach Moleschott (11) 67,6 Proz. Nach v. Bezold (12) dient als Minimalzahl für den Wassergehalt der erwachsenen Säugetiere die Zahl 67,5 Proz.

Auch diese Zahlen bewegen sich in recht engen Grenzen, und wenn wir sie den Werten gegenüberstellen, die sich für den Wassergehalt von Nährböden ergeben haben, in denen Bakterien eben noch oder eben nicht mehr fortkommen, so zeigt sich, daß diese Zahlen fast absolut dieselben sind.

Der Körper der Neugeborenen ist reicher an Wasser als der der Erwachsenen. Nach Fehling (13) beträgt der Wassergehalt des Neugeborenen 74,4 Proz., Camerer (14) hat ihn aus den Analysen von 6 neugeborenen Kindern auf durchschnittlich 71,8 Proz. berechnet. Indem es unterlassen wird, aus der Tatsache des größeren Wassergehaltes der Säuglinge einen Schluß zu ziehen auf eine etwaige daraus für sie resultierende geringere natürliche Widerstandskraft gegen die Invasion pathogener Bakterien, muß doch auf folgendes hingewiesen werden: „Die Entwicklung und das Wachstum der Säugetiere und folglich auch des Menschen vom Anfange des embryonalen Lebens bis auf den Gipfel der freien Entwicklung ist charakterisiert durch eine fortwährende Abnahme im Gehalte des Gesamtorganismus an bei 120° C flüchtigen Bestandteilen (Wasser) . . . (12)“. Es ist bekannt, daß mit fast gleicher Gesetzmäßigkeit die Mortalitäts- und Morbiditätszahlen vom Säuglingsalter bis zum Abschluß der Entwicklung sich in absteigender Linie bewegen.

Das Zusammentreffen dieser Tatsachen ist so auffallend, daß es an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben durfte.

Am Schluß dieser Erörterungen sei noch einmal das Fazit meiner Versuche festgestellt:

1) Der mittlere Wassergehalt des gesunden, erwachsenen Menschen entspricht dem Wassergehalt solcher künstlicher Nährböden, in denen Bakterien nicht mehr fortkommen können.

2) In künstlichen Nährböden, deren Wassergehalt größer ist als der mittlere Wassergehalt des gesunden Menschen, ist eine allmählich sich steigernde Wachstumshemmung für Bakterien zu konstatieren; diese ist um so größer, je geringer der Wassergehalt der Nährböden wird.

Literatur.

- 1) Baumgarten, Beiträge zur Lehre von der natürlichen Immunität. (Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 41.) — Zur Lehre von den natürlichen Schutzmitteln gegenüber Infektionen. (Ebenda. 1900. No. 7. 8 u. 9.) — Der gegenwärtige Stand der Bakteriologie. (Ebenda. 1900. No. 27 u. 28.) — Mikroskopische Untersuchungen über Plasmolyse im heterogenen Serum. (Ebenda. 1901. No. 50.) — Beitrag zur Lehre von der natürlichen Immunität. (Arbeiten a. d. pathol.-anat. Institut zu Tübingen. Bd. III. 1899.) — Jetter, Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Serums. (Ebenda. Bd. I. 1891—1892.) — Walz, Ueber die sogenannte bakterizide Eigenschaft des Bluteserums und über ihre Beziehungen zu Assimilationsvorgängen und zu osmotischen Störungen. (Ebenda. Bd. III. 1899.)
- 2) Fischer, A., Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXV. 1900. Heft 1.)
- 3) Roser, Karl, Beiträge zur Biologie niederster Organismen. [Inaug.-Diss.] Marburg 1881.
- 4) Buchner, H., Ueber den Einfluß höherer Konzentration des Nährmediums auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1890.) — Buchner, Voit, Sittmann, Orthenberger, Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Wir-

- kungen des Blutes. (Arch. f. Hyg. Bd. X. 1890.) — Buchner, Eine neue Theorie über Erzielung von Immunität gegen Infektionskrankheiten. München 1883. — Die keimtötende, die globulizide und die antitoxische Wirkung des Blutserums. (Münch. med. Wochenschr. 1892. p. 119.) — Zur Frage der natürlichen Immunität. (Ebenda. 1899. No. 43.) — Natürliche Schutzvorrichtung des Organismus und deren Beeinflussung zum Zwecke der Abwehr von Infektionskrankheiten. (Ebenda. 1899. No. 39.)
- 5) v. Lingelsheim, Bedeutung der Salze für die bakterizide Wirkung des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. XXXVII. 1901. Heft I.)
 - 6) Finckh, Aufhebung der sogenannten bakteriziden Wirkung des Serums durch Zusatz von Nährstoffen. (Arbeiten a. d. pathol.-anat. Inst. zu Tübingen. Bd. IV. 1902.)
 - 7) Wolf, Leo, Ueber den Einfluß des Wassergehaltes der Nährböden auf das Wachstum der Bakterien. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1899.
 - 8) Bischoff, Einige Gewichts- und Trockenbestimmungen der Organe des menschlichen Körpers. (Zeitschr. f. rationelle Med. Bd. XX. 1863.)
 - 9) Herrmann, Handb. d. Physiol. Bd. VI. p. 345.
 - 10) Volkmann, Ber. d. sächs. Gesellsch. d. Wissensch., math.-physik. Klasse. 1874.
 - 11) Moleschott, Physiologie der Nahrungsmittel. 2. Aufl.
 - 12) v. Bezold, Zeitschr. f. wissenschaftl. Zool. Bd. VIII. 1857.
 - 13) Fehling, Arch. f. Gyn. Bd. XI. 1877.
 - 14) Camerer, Die chemische Zusammensetzung des Neugeborenen. (Zeitschr. f. Biol. Bd. XXXIX. XL u. XLIII.)

Nachdruck verboten

Ein Beitrag zur Kenntnis von der Dauer des Bestehens der Widalschen Reaktion nach überstandem Typhus.

[Aus der medizinischen Klinik zu Breslau.]

Von Dr. Paul Krause.

Bekanntlich war in der ersten Zeit nach Bekanntwerden der Widalschen Reaktion einer der Haupteinwände gegen den Wert derselben der, daß dieselbe auch nach abgelaufener Infektion in einzelnen Fällen so lange bestehen bleibt, daß dadurch Fehldiagnosen veranlaßt worden sind, so z. B. in dem bekannten Falle von Du Mesnil de Rochemont (1), in welchem bei zweifelhafter klinischer Diagnose wegen positiven Ausfalles der Reaktion die Diagnose auf Typhus gestellt wurde, während die Sektion Meningitis, ulzeriertes Magencarcinom, folliculäre Enteritis ergab. Auch mir persönlich ist ein nicht publizierter Fall näher bekannt, wo gerade wegen des stark positiven Ausfalles der Widalschen Reaktion die klinisch nicht sichere Diagnose auf Typhus gestellt wurde, während die Sektion eine miliare Tuberkulose ergab; es wurden in diesem Falle auch Milz und Leber kulturell untersucht und auch dadurch das Fehlen einer typhösen Erkrankung sichergestellt.

Wie lange besteht durchschnittlich die Serumreaktion bei Typhusrekonvaleszenten?

Es liegen darüber schon (trotz der entgegengesetzten Angabe Waldvogels) eine ganze Anzahl von systematischen Untersuchungen vor. Eine Klärung der Tatsache, weshalb in dem einen Falle die Reaktion schnell verschwindet, während sie in dem anderen bestehen bleibt, ist aber bisher noch nicht erbracht worden. Deshalb erscheint jeder Beitrag zu dieser Frage auch heute noch berechtigt.

Ehe ich auf meine zum Teil mit Herrn Dr. Meister¹⁾ gemeinsam

1) Dessen Dissertation, Breslau 1903.

angestellten Untersuchungen eingehe, will ich einen kurzen Ueberblick über die mir zugänglich gewesene Literatur geben.

Mehrere russische Autoren, so Zabolotny (2), Ssinew (3), Petermann (4), Mamonow (5), Gerloczy (6) machen Angaben über die Dauer der Widalschen Reaktion. Leider sind mir die Arbeiten nur aus kurzen Referaten bekannt; da dieselben nichts über die Zahl der untersuchten Fälle und vor allem über die Agglutinationsweite enthalten, so kann ich leider nur folgende Daten geben: Zabolotny fand in mehreren Fällen 2—3 Monate nach überstandem Typhus eine positive Reaktion in einer Verdünnung von 1:10—1:100, in einem Falle 2 Jahre nach überstandener Infektion. Ssinew hatte bei 10 Typhusrekonvaleszenten 9mal einen positiven, 1mal einen negativen Ausfall der Reaktion, und zwar 1 Monat nach dem Typhus. Die anderen Autoren erwähnen Fälle mit positiver Reaktion 3 Monate bis 16 Jahre nach überstandem Typhus.

Die Amerikaner Anders (7) und Mc Faeland (8) untersuchten 40 Typhusrekonvaleszenten und fanden in 9 Fällen, welche 1—10 Jahre post infectionem waren, eine positive, in den übrigen 20 (1—20 Jahre post infectionem) eine negative Reaktion; über die Agglutinationsweite ist ebenfalls nichts erwähnt.

A. H. Stewart (9) berichtet über Untersuchungen von Typhusrekonvaleszenten aus dem Gesundheitsamte der Stadt Philadelphia; er spricht sich dahin aus, daß die Reaktion positiv war

nach	1 Jahre	bei	50 Proz.
	2 Jahren	"	25 "
	3	"	20 "
	8	"	12 "
	10	"	5 "

Curry und Cabbot (10) erwähnen Fälle, welche Monate bis zu 3 Jahren nach überstandener Krankheit eine positive Reaktion ergaben.

Fixon (11) fand bei Untersuchung von 21 Personen 3 Monate bis 8½ Jahre nach der Erkrankung bei 18 eine positive, bei einem eine zweifelhafte, bei 2 eine negative Reaktion.

Diejenigen Fälle, welche eine Agglutination in einer Verdünnung von unter 1:30 gaben, halte ich nicht für wichtig genug, um sie hier ausführlich anzuführen; dahin gehören die Untersuchungsreihen von Courmont (12), Weinberg (13), Renard (14), Widal (14) u. a. Ich verweise betreffs näherer Angaben auf die Zusammenstellung in der Dissertation von Herrn Dr. Meister.

Widal und Sicard (15) fanden 8 Jahre nach überstandem Typhus eine positive Serumreaktion (1:800), in einem Falle sogar 26 Jahre post typhum in einer Verdünnung des Serums von 1:30, ferner 2mal 9 Jahre danach (Verdünnung 1:30 resp. 1:40).

Ueber die Resultate anderer Autoren gibt folgende Tabelle (p. 123) Auskunft.

Diese kurze Uebersicht über die Literatur, welche auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen kann, da mir die ausländische, speziell die französische Literatur nicht genügend zugänglich war, läßt erkennen, daß die Dauer der positiven Serumreaktion (in einer höheren Verdünnung) durchaus regellos ist: zweifellos sind uns die Gesetze, denen das Agglutinationsphänomen bezüglich seines Fortbestehens nach überstandener Infektion unterliegt, noch unbekannt.

	Zahl der Fälle	1-3 Mon.		3-6 Mon.		6-9 Mon.		9-12 Mon.		1-2 Jahre		2-5 Jahre		5-10 Jahre		über 10 J.		Verdünnung
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
1. Tabiesen (16)	1									1								1:50
2. Schulz (17)	6													1		1		1:25—1:20, die übrigen Fälle waren negativ
3. Kühnau (18)	1														1			1:60
4. Foerster (19)	33	19	14															1:60—1:2000
5. J. Lewy (20)	5	1	3													1		1:40—1:480
6. A. Hoffmann (21)	42	5	1	3						2	1	6	2	7	1	14		1:20—1:50
7. Widenmann (22)	67	10								2			2	4				1:50
8. Sklower (23)	15		1				4			1	1	1						71:10—1:400
9. Kasel und Mann (24)	51	5	2	3	8	7	4	2	3	4	2	1	1	3				51:50
10. Köhler (25)	18	1		1	2	1			2	2		3			1			51:20—1:60
11. Waldvogel (26)	23							3	13	2	3	1	1					1:50—1:460
12. Widal u. Siccard (27)	4													3		1		1:30—1:800

Bemerkenswert und besonders hervorzuheben ist aber eine Tatsache, welche durch die Untersuchungen von Kasel und Mann, von Courmont festgelegt ist, nämlich daß bei Kindern die agglutinierende Kraft früher nach überstandendem Typhus verloren geht als bei Erwachsenen.

Ich komme zu meinen eigenen Untersuchungen:

Vorweg bemerke ich, daß ich die Reaktion mit dem Blutserum von Kranken, welche einen Typhus überstanden hatten, nur mikroskopisch anstellte, und zwar suchte ich die Agglutinationsgrenze nach oben innerhalb von einer gewissen Zeit auf; als positive Reaktion bezeichnete ich die, bei welcher in Verdünnung des Serums von wenigstens 1:40 spätestens nach 2 Stunden Dauer die vorher gut beweglichen Typhusbacillen in Häufchen zusammengeballt und bis auf wenige Exemplare immobilisiert waren.

Die Verdünnung nahm ich teils nach der von E. Fraenkel ausgearbeiteten Tröpfchenmethode, teils nach der von R. Stern geübten Abmessung des Serums in gradiertem Kapillarröhrchen vor.

Meine Resultate sind folgende (s. Tab. p. 124 u. 125).

Von den 71 untersuchten Fällen waren demnach 36 „positiv“ und 35 „negativ“.

Der Fall mit positiver Reaktion von längster Dauer befand sich 12 Jahre nach überstandendem Typhus; das Serum agglutinierte in einer Verdünnung von 1:40.

Andererseits haben wir 3 Fälle mit negativer Reaktion schon im 1. Monate nach der Erkrankung.

Von den während des 1. Jahres nach der Krankheit untersuchten Fällen befinden sich (von 26) 16 „positive“ und 10 „negative“, von den in den nächsten 2—5 Jahren untersuchten 21 Fällen 12 „positive“ und 9 „negative“; bei den vom 5.—10. Jahre nach der Krankheit untersuchten Fällen haben wir (von 19) 7 positive und 12 negative. Unter den vom 10.—20. Jahre nach der Krankheit untersuchten Fällen hatten wir (von 5) 1mal ein positives, 4mal ein negatives Ergebnis.

Alles übrige ergibt sich zur Genüge aus den Tabellen.

Welches können die Gründe sein, welche ein Nachlassen bezw. Aufhören der Widalschen Reaktion veranlassen?

No.	Name	Ge- schlecht	Alter des Patienten	Zeitdauer nach der Erkrankung	Reaktion	Be- merkungen
A. Die positiven Fälle:						
1	Bo.	w.	36 Jahre	1 Mon.	1:60 + (nach 2 Stunden)	
2	M., L.	m.	18 "	1 "	1:80 + 1:100 -	
3	Ra.	m.	33 "	1 "	1:60 -	
4	Le.	m.	18 "	1 "	1:60 +	
5	Go.	m.	17 "	1 "	1:40 + (nach 40 Min.) 1:80 -	
6	Sch., K.	m.	50 "	3 "	1:40 + 1:60 -	
7	Pel.	m.	27 "	4 "	1:60 +	
8	Kl., P.	m.	18 "	8 "	1:40 + 1:60 -	
9	S., Joh.	m.	34 "	8 "	1:50 +	
10	Gi.	m.	25 "	8 "	1:100 +	
11	He.	m.	15 "	1 Jahr	1:40 + 1:60 + (schwach)	
12	Sw.	m.	18 "	1 " 2 Mon.	1:60 +	
13	Re.	m.	40 "	4 " 1 "	1:60 + 1:80 + (schwach)	
14	So.	m.	36 "	4 " 2 "	1:40 + 1:80 -	
15	Fr.	m.	24 "	4 " 4 "	1:80 +	
16	Kz.	m.	39 "	4 " 6 "	1:80 + 1:160 -	
17	Ku.	m.	28 "	5 " 3 "	1:160 + 1:320 -	
18	Ur.	m.	25 "	6 " 4 "	1:40 + 1:60 -	
19	Bo.	m.	33 "	7 "	1:80 + 1:160 -	
20	Ka.	m.	32 "	7 ¹ / ₂ "	1:80 + 1:100 -	
21	Ma.	m.	18 "	8 "	1:80 + 1:160 -	
22	Re.	w.	20 "	9 "	1:80 + 1:160 -	
23	Ki.	m.	29 "	12 "	1:40 + 1:80 -	
24	Har.	m.	22 "	2 Mon.	1:80 +	
25	P.	w.	24 "	1 ¹ / ₂ "	1:200 + 1:360 -	
26	W.	m.	36 "	2 "	1:160 + 1:200 -	
27	Pe.	w.	32 "	1 ¹ / ₂ "	1:80 + 1:160 -	
28	K.	w.	21 "	6 "	1:80 + 1:160 -	
29	R.	w.	42 "	8 "	1:160 + 1:320 -	
30	F.	w.	39 "	1 ¹ / ₄ Jahr	1:60 + 1:100 -	
31	K.	m.	—	1 ¹ / ₂ "	1:160 + 1:320 -	
32	B.	m.	26 "	1 ¹ / ₂ "	1:80 + 1:160 -	
33	M.	m.	18 "	1 ¹ / ₂ "	1:80 + 1:160 -	
34	C.	w.	46 "	2 "	1:160 + 1:320 -	
35	S.	m.	33 "	4 "	1:40 + 1:160 -	Icterus gravis
36	M.	m.	52 "	5 "	1:80 + (schwach) 1:320 + 1:600 -	Icterus gravis

B. Die negativen Fälle:

1	Si.	w.	35 Jahre	1 Mon.	1:10 + 1:40 -	
2	Pi.	m.	14 "	1 "	1:1 + 1:40 -	
3	Pr.	m.	21 "	1 "	1:1 + 1:40 -	
4	M.	m.	17 "	7 "	1:30 -	
5	Ms.	m.	24 "	11 "	1:1 + 1:40 -	
6	Ko.	m.	16 "	1 Jahr 4 Mon.	1:1 + 1:40 -	
7	Ti.	m.	29 "	4 " 1 "	1:30 + 1:40 -	
8	Da.	m.	28 "	4 " 4 "	1:1 + 1:40 -	
9	Wi.	m.	39 "	5 " 4 "	1:1 + 1:40 -	
10	Mr.	m.	36 "	7 "	1:1 + 1:40 -	
11	Mach	m.	26 "	18 "	1:1 + 1:40 -	
12	Chrz.	m.	20 "	7 ³ / ₄ "	1:1 -	
13	Skla.	m.	14 "	20 "	1:1 + 1:40 -	
14	M.	m.	—	1 "	1:1 + 1:40 -	
15	R.	m.	52 "	1 "	1:20 + 1:30 -	
16	W.	m.	21 "	1 "	1:1 + 1:40 -	
17	L.	m.	19 "	1 "	1:30 + 1:40 -	
18	B.	m.	19 "	1 "	1:1 + 1:10 -	

No.	Name	Geschlecht	Alter des Patienten	Zeitdauer nach der Erkrankung	Reaktion	Bemerkungen
19	L.	m.	47 Jahre	1 $\frac{1}{4}$ Jahre	1:1 + 1:10 -	
20	S.	m.	45 "	1 $\frac{1}{2}$ "	1:20 + 1:30 -	
21	D.	m.	46 "	4 "	1:1 + 1:40 -	
22	S.	m.	34 "	2 "	1:1 + 1:10 -	
23	K.	m.	—	4 "	1:1 + 1:40 -	
24	R.	m.	—	4 "	1:20 + 1:40 -	
25	R.	m.	21 "	5 "	1:30 + 1:40 -	
26	W.	m.	52 "	6 "	1:10 -	
27	W.	m.	22 "	6 "	1:10 + 1:20 -	
28	M.	m.	39 "	6 "	1:10 -	
29	S.	m.	44 "	6 "	1:10 + 1:20 -	
30	J.	m.	42 "	6 "	1:10 + 1:20 -	
31	H.	m.	21 "	8 "	1:1 + 1:40 -	
32	J.	m.	34 "	8 "	1:20 + 1:30 -	
33	L.	m.	39 "	8 "	1:10 + 1:30 -	
34	S.	m.	52 "	10 "	1:1 + 1:40 -	
35	N.	m.	36 "	12 "	1:1 + 1:40 -	

C. Uebersicht über die Zeit, welche nach dem Typhus bei der Untersuchung verfloßen war:

Zeitangabe	Zahl d. untersuchten Fälle	positiv	negativ
1 Monat	8	5	3
1—2 Monate	4	4	—
3 "	1	1	—
4 "	1	1	—
5—6 "	1	1	—
7 "	1	—	1
8 "	4	4	—
11 "	1	—	—
1 Jahr	5	—	5
1— 2 Jahre	11	7	4
4 "	10	5	5
5 "	4	2	2
6 "	6	1	5
7 "	4	2	2
8 "	4	1	3
9 "	1	1	—
10—20 "	5	1	4

D. Uebersicht über die positiven Resultate, nach dem Grade der Verdünnung geordnet:

	Gesamtzahl	1—3 Monate	3—5 Monate	6—9 Monate	9—12 Monate	1—2 Jahre	2—5 Jahre	5—10 Jahre	über 10 Jahre
1:30	4	—	—	—	—	2	2	—	—
1:40	6	2	—	1	—	—	1	—	—
1:50	1	—	—	1	—	—	—	—	—
1:60	7	3	1	—	—	3	—	—	—
1:80	12	3	—	1	—	2	4	4	—
1:100	1	—	—	1	—	—	—	—	—
1:160	3	1	—	1	—	2	—	1	—
1:200	1	1	—	—	—	—	—	—	—
1:320	1	—	—	—	—	—	—	1	—

Von den verschiedenen Möglichkeiten will ich hier nur folgende hervorheben:

Erstens könnten andere Infektionskrankheiten, von welchen ein Typhusrekonvaleszent befallen wird, je nach der Art der Krankheitserreger Stoffe im Blutserum erzeugen, wodurch die Agglutinine des Typhusserum geschädigt resp. vernichtet würden.

In der Literatur fand ich eine Beobachtung von Pick, welche für diese Ansicht zu sprechen scheint. Pick fand nämlich, daß die bis dahin positive Widalsche Reaktion eines Typhuskranken mit dem Eintritt einer Pneumokokkenpneumonie verschwand; er sucht sich die auffallende Erscheinung dadurch zu erklären, daß er annimmt, daß die Pneumokokken im Blut seines Kranken Stoffe gebildet hätten, welche die Typhusagglutinine vernichtet hätten.

Dieser Angabe wegen achtete ich sorgfältig bei Erhebung der Anamnese der von mir untersuchten Patienten darauf, ob dieselben nach dem Typhus noch eine Pneumonie durchgemacht hatten; in 3 Fällen schien das anamnestisch einwandfrei festgestellt werden zu können; alle 3 hatten aber eine „negative“ Widalsche Reaktion.

Da dieses Ergebnis mit der Pickschen Angabe zu stimmen schien, versuchte ich auch experimentell, der Lösung dieser Frage näher zu kommen; ich untersuchte das Serum von 10 Pneumoniekranken auf Agglutination von Typhusbacillen und verdünnte damit zu gleichen Teilen (und in höherem Grade) Typhusbacillen agglutinierendes Serum von Typhusrekonvaleszenten; alle diese auf solche Weise angestellten Versuche, die Agglutinine des Typhusserum zu „binden“, fielen negativ aus. Ferner stellte ich mir durch Injektion von Typhusbacillen ein hochwertig agglutinierendes Blutserum von 2 Kaninchen her und infizierte nachträglich die Tiere mit *Diplococcus lanceolatus*-Kulturen; die Tiere gingen beide prompt an Pneumokokkensepsis zu Grunde, ohne daß das Blutserum seine Typhusbacillen agglutinierende Kraft eingebüßt hatte.

Das Blutserum eines Pneumoniekranken, welcher außerdem Typhus abdominalis hatte, stand mir zur Untersuchung leider nicht zur Verfügung.

Von anderen Infektionskrankheiten wurden von meinen Kranken Scharlach (2mal), Masern (1mal), Pocken (1mal), Gesichtsrose (2mal), Syphilis (1mal) nach überstandem Typhus durchgemacht; einen Einfluß auf die Dauer des Agglutinationsphänomens mit Typhusbacillen war nicht nachzuweisen.

Demnach dürfte wohl der am Anfange dieses Abschnittes aufgestellte Satz vorläufig nur als Hypothese Geltung haben trotz der Beobachtung von Pick und trotz meiner Fälle — letztere halte ich deshalb nicht für beweisend, weil die Patienten 6—8 Jahre nach überstandem Typhus sich befanden.

Ferner könnte die Zahl der im Blute kreisenden Bacillen auf die Agglutinationsdauer irgend welchen nachweisbaren Einfluß haben.

Bisher konnte ich nur in 4 Fällen darauf mein Augenmerk richten: im I. Falle wies ich in 20 ccm Blut 6, im II. Falle 62, im III. Falle 18, im IV. Falle 1 Keim nach; vorläufig ist die Agglutination bei allen noch positiv, doch sind erst längstens 4 Monate nach der Infektion verflossen, ein Urteil ist demnach noch nicht gestattet. Hoffentlich kann ich darüber später noch einiges mitteilen, ob die Agglutinationsbreite und Dauer durch die Zahl der im Blute kreisenden Bacillen irgendwie erheblich beeinflußt wird.

Zum Schlusse dieser Ausführungen will ich auf eine andere Möglichkeit hinweisen, weshalb in dem einen Falle das Agglutinationsphänomen im Blutserum von Menschen, welche einen Typhus abdominalis überstanden haben, lange Zeit bestehen bleibt, in dem andern nicht. Aus den neuesten Untersuchungen des um die Erforschung des Typhus in vielfacher Hinsicht so verdienten Prosektors E. Fraenkel (29), Hamburg, haben wir kennen gelernt, daß mit Regelmäßigkeit im Knochenmark von Typhusleichen Typhusbacillen lange Zeit vorkommen; eine andere, durch mehrfache Nachuntersuchung festgestellte Tatsache ist es, daß in einzelnen Fällen wochen-, ja monate- und jahrelang nach überstandem Typhus in der Galle Typhusbacillen in großer Zahl vorkommen können; vor kurzem ist ein tödlich verlaufener Typhusfall mit mehrmonatlichem bacillärem Befunde im Blute beobachtet worden.

Andererseits wissen wir, daß in dem größten Teile der Fälle die Typhusbacillen nur kurze Zeit (etwa 2—3 Wochen) im Blute kreisen.

Es liegt deshalb der Gedanke nahe, daß die Agglutinationsdauer des Typhusrekonvaleszenten davon abhängig ist, wie lange Typhusbacillen im Körper vorhanden sind resp. waren. Verschwinden dieselben schnell aus dem Körper, so werden auch die Agglutinine nur eine gewisse Dauer haben; sind dagegen Typhusbacillen monatelang im Körper, so werden auch die Agglutinine im Blute so reichlich gebildet, daß dadurch eine größere Dauer bewirkt wird.

Literatur.

- 1) Du Mesnil de Rochemont, Münch. med. Wochenschr. 1897. — 2) Baumgartens Jahresber. 1897. p. 388. — 3—11) Baumgartens Jahresber. 1897. 1898. 1899. — 12) Courmont, Compt. rend. de la société de biologie. 1897. No. 12. — 13) Ebd. 1897. No. 32. — 14) Thèse. — 15) Widai et Siccard, Annal. de l'Institut Pasteur. 1897. — 16) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 303. — 17) Baumgartens Jahresber. 1897. — 18) Berl. klin. Wochenschr. 1897. — 19) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. — 20) Lewy, Wien. klin. Wochenschr. 1897. — 21) Centralbl. f. innere Med. 1897. — 22) Charité Annal. Jahrg. XXV. — 23) Diss. Leipzig. — 24) Münch. med. Wochenschr. 1899. — 25) Klin. Jahrb. Bd. VIII. — 26) Festschr. f. Ohrdt. — 27) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897. — 28) Mittel. a. d. Grenzgebieten. 1903. — 29) Fraenkel u. Krause, Zeitschr. f. Hyg. 1899.

Nachdruck verboten.

Zur bakteriologischen Diagnose bei pestkranken Ratten.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institute zu Hamburg.]

Von

Prof. Dr. Dunbar.

und

Dr. J. Kister,

Direktor des hygienischen Institutes.

Abteilungsvorsteher am Institut.

Mit 2 Tafeln.

Ratten spielen, wie man bekanntlich annimmt, bei der Pestverbreitung eine wichtige Rolle. Da nun jedes Schiff mehr oder weniger intensiv von Ratten bevölkert ist, so betrachtet man es zur Zeit mit Recht als eine der notwendigsten Schutzvorkehrungen gegen die Pesteinschleppung, daß alle aus pestinfizierten Orten kommenden Schiffe auf die Anwesenheit nicht allein pestverdächtiger Menschen, sondern auch pestverdächtiger Ratten untersucht werden.

Im Laufe der letzten 4 Jahre sind im Hamburger hygienischen

Institute in 4 Fällen Pestbakterien in Ratten vorgefunden worden, die nach obigen Gesichtspunkten vom hiesigen Hafentarz, Herrn Physikus Dr. Nocht, zur Untersuchung eingeliefert worden waren.

Die Befunde boten in jedem einzelnen Falle gewisse Besonderheiten, die nicht ohne Einfluß auf den Verlauf der diagnostischen Arbeiten bleiben konnten. Denjenigen Kollegen, welche damit zu rechnen haben, daß sie gelegentlich mit ähnlichen Aufgaben betraut werden, wird es nicht uninteressant sein, etwas Näheres über die Beobachtungen zu hören, welche wir bei den Pestrattenuntersuchungen gemacht haben.

Mehr noch als sonstige bakteriologisch-diagnostische Aufgaben, erheischen die Untersuchungen pestverdächtiger Schiffsratten, daß die Arbeiten möglichst schleunig bis zu dem Punkte gefördert werden, daß man ein Urteil darüber abzugeben vermag, ob der Pestverdacht begründet sei oder nicht. Den Reedereien und dem Handel liegt aus leicht erklärlichen Gründen ungemein viel daran, daß die Entlöschung der Schiffe keine unnötige Unterbrechung erfährt.

Finden sich, wie es recht häufig vorkommt, auf einem aus pestinfizierten Orten einlaufenden Schiffe Rattenkadaver, deren Sektion keine für Pest charakteristischen Veränderungen, sondern andere Befunde ergibt, wie z. B. die Anzeichen einer Phosphorvergiftung, so wird sofort gemeldet werden können, daß der Fall unverdächtig erscheint. Durch die vorgenommene Untersuchung wird in solchem Falle Handel und Wandel nicht im geringsten gestört.

In Fällen aber, wo die Sektion pathologisch-anatomische Veränderungen ergibt, wie sie bei Pestratten vorkommen, wo namentlich in den Organen der Ratten sich Bakterien finden, die sich in Form und Färbbarkeit wie Pestbakterien verhalten, erheischen es die Interessen des Handels sowohl, als auch namentlich diejenigen der öffentlichen Sicherheit, daß der Bakteriologe den zuständigen Behörden unverzüglich Meldung macht, damit sie das Schiff als pestverdächtig behandeln können. Denn bei den Entlöschungsarbeiten können in jedem Momente lebende Ratten an Land kommen. Ihrer dort nachträglich noch habhaft zu werden, ist in der Regel ein Ding der Unmöglichkeit. Daß aber unter Umständen eine einzige Ratte genügen kann, um die Pest wirksam einzuschleppen, muß nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen als eine feststehende Tatsache gelten.

Sobald also der pathologisch-anatomische und der bakteriologische Befund den Ausspruch „pestverdächtig“ rechtfertigen, müssen seitens der verschiedenen zuständigen Behörden Maßregeln getroffen werden, welche das Entweichen von Pestratten bezw. die sonstige Ausbreitung des Infektionsstoffes unmöglich machen, und das läßt sich ohne Vorkehrungen nicht erreichen, die einen schweren Eingriff in die Verkehrsverhältnisse bedeuten.

Das Urteil „pestverdächtig“ sollte mithin nicht allein mit größter Beschleunigung, sondern womöglich auch nur in solchen Fällen ausgesprochen werden, wo die weiteren diagnostischen Arbeiten tatsächlich zum Nachweis von Pestbakterien führen.

Sollte es wiederholt vorkommen, daß Schiffe auf den Ausspruch „pestverdächtig“ hin außer Verkehr gesetzt und sonstig in entsprechender Weise behandelt werden, ohne daß sich die Richtigkeit der Diagnose später erhärten ließe, so würde das nicht allein wegen der großen pekuniären Verluste, die jeder Tag der Außerdienststellung eines Schiffes nach sich zieht und wegen Unterbrechung der fahrplanmäßigen Fahrten,

sondern auch wegen der beträchtlichen Arbeiten und Aufwendungen, welche den Behörden aus einem jeden solchen Falle erwachsen, naturgemäß zu erheblicher Unzufriedenheit in den interessierten Kreisen Anlaß geben müssen.

Von obigen Gesichtspunkten haben wir uns bei der Untersuchung pestverdächtigen Materiales leiten lassen.

Dank der Munifizenz der gesetzgebenden Körperschaften Hamburgs haben wir in unserem Institut speziell für die Pestuntersuchungen Räume in solcher Größe einrichten und derartig ausstatten können, daß den nicht unbeträchtlichen Anforderungen, die im Laufe der letzten Jahre durch Pestuntersuchungen fortgesetzt an uns herantraten, jederzeit genügt werden konnte. Im ganzen sind unsererseits bislang 859 Ratten und 193 Mäuse, die von 64 Schiffen stammten, wegen Pestverdacht untersucht worden; außerdem in 20 Fällen Material von pestverdächtigen Menschen und schließlich eine Reihe pestverdächtiger Warenproben sowie anderer Gegenstände.

Auf 4 Schiffen wurden, wie schon erwähnt, pestinfizierte Ratten angetroffen und zwar im ganzen 59. Außerdem wurden Pestbakterien in einer Maus, sowie auch schließlich in einer von einem Menschen stammenden Drüse nachgewiesen.

In sämtlichen positiven Fällen konnte innerhalb einer halben bis einer Stunde nach Einlieferung des Materiales die Meldung gemacht werden, daß der Fall „pestverdächtig“ sei.

In allen negativen Fällen konnte ebenfalls sofort nach Einlieferung die Meldung „unverdächtig“ gemacht werden.

In Betreff der negativen Fälle mag gleich an dieser Stelle erwähnt werden, daß hin und wieder die Frage an uns herangetreten ist, ob nicht vielleicht in den fauligen Kadavern, die in großer Zahl zur Untersuchung kamen, doch Pestbakterien vorhanden gewesen sein könnten, deren Nachweis durch die Fäulnisbakterien verhindert worden wäre. Zeitweise haben wir die Möglichkeit solcher Vorkommnisse zugegeben. Zur Zeit sind wir aber der Auffassung, daß Pestbakterien, selbst in geringer Zahl, unserer Beobachtung nicht entgangen sein dürften. Es hat sich im Laufe der Zeit gezeigt, daß Meerschweinchen — welche in jedem Falle außer Ratten mit Organen aus den eingelieferten Kadavern infiziert wurden — den Pestbakterien gegenüber so außerordentlich empfindlich sind, daß man letztere durch diese Versuchstiere selbst in Fällen nachzuweisen vermag, wo fremde Mikroorganismen in dem Untersuchungsmaterial vorherrschend sind. Von den geimpften Meerschweinchen ist aber außer in den als „pestverdächtig“ gemeldeten Fällen niemals eines nachträglich mit Pestbefund eingegangen.

Aus sämtlichen als „pestverdächtig“ gemeldeten Fällen ist es uns späterhin gelungen, Reinkulturen von Pestbakterien zu isolieren.

Wir betrachten es nur als einen äußerst glücklichen Zufall, daß wir die Pestdiagnosen bislang so prompt und sicher erledigen konnten. Denn unser Ausspruch „pestverdächtig“ stützte sich, wie schon dargelegt, außer auf den pathologisch-anatomischen Befund, nur auf gefärbte Ausstrichpräparate und hängende Tropfen. Daß es aber Mikroorganismen gibt, die im gefärbten Ausstrichpräparat und im hängenden Tropfen den Pestbakterien unter Umständen zum Verwechseln ähnlich sehen können, darf zur Zeit als eine bekannte Tatsache gelten. Zwar scheint die Auffassung sehr verbreitet, als ob solche pestähnliche Bakterien nicht Ratten unter denselben Erscheinungen töteten, wie Pestbakterien es tun; als ob

man also nicht damit zu rechnen brauche, solchen pestähnlichen Bakterien einmal auch in pestverdächtigen Rattenkadavern zu begegnen. Wir sind anderer Ansicht und möchten unsere abweichende Meinung durch folgende Beispiele begründen:

Auf einem aus Buenos Aires kommenden Segelschiffe, der Sevilla, wurden 2 Rattenkadaver aufgefunden, von denen der eine in den gefärbten Organusstrichen Bilder ergab, wie sie sich in den Figuren 2 Tafel I und II abgebildet finden. Man wird zugeben müssen, daß es sich hier um Befunde handelt, die sehr weitgehende Aehnlichkeit mit den in den Figuren 1, Tafel I und II abgebildeten zeigen, welche letztere bei einer Pestratte erhoben wurden. Diese Aehnlichkeit tritt in der Tafel II noch deutlicher hervor, als in den Mikrophotogrammen der Tafel I. In den Originalmikrophotogrammen war sie übrigens auch größer, als in den Reproduktionen. Die Tafel II ist nach einem Aquarell hergestellt worden, das von einem Künstler verfertigt worden war, der nicht Bakteriologe ist, der also auch nicht etwa unbewußt dazu neigen konnte, die Aehnlichkeit noch deutlicher zum Ausdruck zu bringen, als sie von Natur war. Er hatte aber die Möglichkeit, die Abbildung bei verschiedenen Einstellungen des Mikroskopes vorzunehmen, die beim Mikrophotogramm bekanntlich nicht vorliegt. Unserer Auffassung nach entsprechen die in Tafel II wiedergegebenen Befunde den abgebildeten Präparaten, wie diese dem Auge unter dem Mikroskop erscheinen, mehr, als diejenigen der auf Tafel I wiedergegebenen Mikrophotogramme.

Ob diese Ratte der Infektion mit den betreffenden pestähnlichen Bakterien erlegen sei, ließ sich nicht entscheiden. Auch war die Fäulnis in dem Rattenkadaver schon so weit vorgeschritten, daß sich nicht mehr erkennen ließ, ob das Tier mit für Pest charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen eingegangen war. Die kutan und subkutan geimpften Meerschweinchen sind am Leben geblieben; auch die subkutan geimpften Ratten. Nur eine Ratte, der Organteile des Kadavers auf die Schleimhaut der Schnauze und des Maules gerieben worden waren, ist eingegangen. Der Sektionsbefund sprach aber nicht für Pest, sondern es fanden sich chronische Lungenveränderungen als Todesursache; auch ließen sich die betreffenden Mikroorganismen in den Organen nicht auffinden. Daß es sich aber in diesem Falle nicht etwa um abgestorbene oder avirulente Pestbakterien handelte, geht aus den Ergebnissen der Kulturversuche hervor. In den ersten angelegten Platten zeigten diese Bakterien, die in anderen Punkten durchaus nicht pestähnlich waren, dieselbe pestähnliche Form und Färbbarkeit, wie sie die Organusstriche aufwiesen.

Es dürfte außer Zweifel stehen, daß aus Befunden, wie demjenigen der Sevillaratte, auch geübten Bakteriologen gelegentlich Schwierigkeiten erwachsen können.

Mit Befunden von so weitgehender Pestähnlichkeit, wie den eben beschriebenen, hat man bei der Untersuchung von Rattenkadavern nur selten zu rechnen. Gar nicht selten aber finden sich in den Organusstrichen von Rattenkadavern Bakterien, die in Form und Färbbarkeit weitgehende Aehnlichkeit mit Pestbakterien aufweisen. In solchen Fällen hat uns die Untersuchung im hängenden Tropfen gute Dienste geleistet, indem die Beweglichkeit der betreffenden Bakterien dadurch sofort nachgewiesen werden konnte.

Wir wollen nicht unerwähnt lassen, daß wir bei anderweitigen Untersuchungen mehrfach Bakterien angetroffen haben, welche in Form und

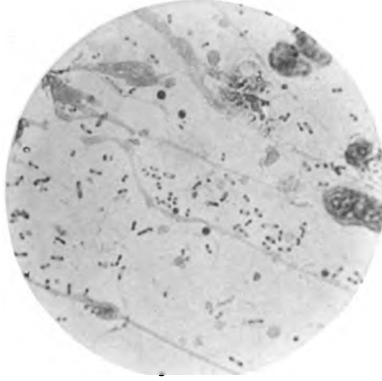


Fig. 1.

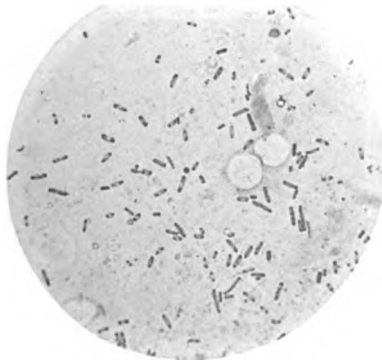


Fig. 2.

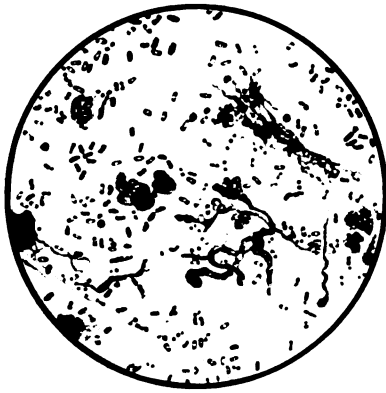


Fig. 1.

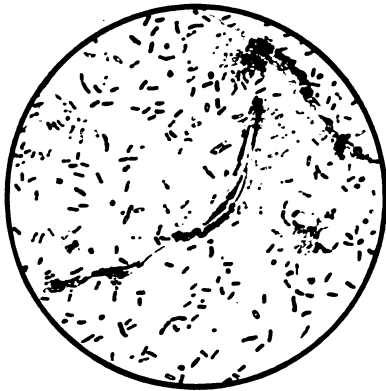


Fig. 2.

Färbbarkeit Pestbakterien sehr ähnlich sahen, und welche bei subkutaner Impfung Ratten töteten und einen Sektionsbefund ergaben, der mit demjenigen der Pest vollständig übereinstimmte. In den gefärbten Organausstrichen aus diesen Ratten sahen die betreffenden Bakterien den Pestbakterien zum Verwecheln ähnlich, sie wurden aber durch Pestserum nicht agglutiniert.

Das abweichende Verhalten im Agglutinationsversuche läßt sich aber bekanntlich erst nach Ablauf einer gewissen Zeit konstatieren. Unsere Erfahrungen haben uns mithin zu der schon vorgetragenen Ansicht geführt, daß es als reiner Glücksfall zu betrachten ist, wenn wir uns bei Abgabe unseres Urteiles „pestverdächtig“ bzw. „nicht pestverdächtig“ bislang in keinem Falle geirrt haben.

Der Ausspruch „pestverdächtig“ besagt ja nun allerdings, daß die Diagnose noch nicht mit Sicherheit gestellt werden kann. Die unmittelbaren Folgen einer solchen Meldung müssen aber nach unseren einleitenden Bemerkungen für das betreffende Schiff zunächst fast dieselben sein wie nach Sicherstellung der Diagnose.

Würde es nach einer irrtümlichen Meldung auf „pestverdächtig“ in jedem Falle gelingen, innerhalb etwa 24 Stunden nachzuweisen, daß der Verdacht nicht begründet war, und könnte somit das Schiff dann wieder freigegeben werden, so würde die geschaffene Sachlage in der Regel noch als erträglich gelten können. Weit unangenehmer wären die Konsequenzen, falls ein ungerechtfertigter Pestverdacht sich während der Dauer von mehreren Tagen nicht würde beseitigen lassen. Daß man unter Umständen auch mit derartigen Vorkommnissen rechnen muß, möchten wir an der Hand von Beobachtungen nachweisen, die uns Anlaß zu dieser Veröffentlichung gegeben haben.

Vorher mag der Beobachtungen, welche wir bei den übrigen Pestrattenschiffen gemacht haben, noch kurz Erwähnung geschehen.

Der im Juli 1900 auf einem Dampfer konstatierte Fall von menschlicher Pest soll an dieser Stelle nicht näher erörtert werden. Die bakteriologische Diagnose bot in diesem Falle keinerlei Schwierigkeiten. Diese vorliegende Abhandlung soll sich auch nur mit der bakteriologischen Diagnose bei Pestratten befassen. Deshalb mögen auch die übrigen 20 negativ verlaufenen Untersuchungen, die an von Menschen stammendem Material vorgenommen wurden, hier unerörtert bleiben.

Am 17. Januar 1901 wurden 4 Ratten- und 1 Mäusekadaver, sowie eine lebende Ratte eingeliefert, welche auf dem aus Smyrna kommenden Dampfer Pergamon aufgefunden waren. Einer von diesen Rattenkadavern befand sich im Zustande stinkender Fäulnis, die 3 übrigen waren frisch und boten pathologisch-anatomisch die für Pest charakteristischen Erscheinungen dar. In den aus Organen hergestellten, gefärbten Ausstrichpräparaten fanden sich zahlreiche Bakterien, die sich ihrer Form und Färbbarkeit nach wie Pestbakterien verhielten. Der Fall wurde sofort als verdächtig gemeldet. Innerhalb 24 Stunden hatten sich die angesetzten Kulturen so weit entwickelt, daß Agglutinationsversuche ausgeführt werden konnten, die positiv ausfielen. Die gewonnenen Kulturen verhielten sich auch in allen sonstigen Punkten wie Pestkulturen. Die geimpften Tiere erschienen um diese Zeit noch alle munter. Etwa 27 Stunden nach Impfung starb aber eine intraperitoneal geimpfte Ratte mit einem für Pest charakteristischen Sektionsbefund,

doch waren in den Organen dieser Ratte nur ganz vereinzelt Bakterien auffindbar. Die daraus angesetzten Kulturen ließen am nächsten Morgen noch kein Wachstum erkennen. Inzwischen war eine weitere intraperitoneal geimpfte Ratte mit für Pest charakteristischem Sektionsbefund eingegangen. In den Organen dieser Ratte fanden sich zahlreiche Mikroorganismen, die das typische Verhalten von Pestbakterien zeigten.

Auf Grund obiger Befunde wurde innerhalb 24 Stunden nach Einlieferung der Kadaver die amtliche Meldung abgegeben, daß der ausgesprochene Pestverdacht sich weiter bestätigt hätte. Erst am 2. Tage wurde aber berichtet, daß die Pestdiagnose sicher gestellt worden sei.

Auf dem Dampfer war inzwischen Rattengift gelegt, welches aus kohlen saurem Baryt und Arsenik bestand. Infolge dessen konnten im Laufe der nächsten Tage noch weitere 22 Ratten zur Untersuchung eingeliefert werden. Von diesen beherbergten 21 Ratten Pestbakterien. Auf dem Pergamon sind mithin im ganzen 24 Pestratten gefunden worden. In 8 von diesen Pestkadavern ließen sich neben Pestbakterien die Erscheinungen der durch oben erwähntes Mittel bewirkten Vergiftung nachweisen. Diese 8 Ratten mußten also beim Einlaufen des Dampfers noch gelebt haben. Die Rattenepidemie war demnach auf dem Pergamon noch nicht abgelaufen gewesen.

Am 19. Dezember 1901 wurden 3 Rattenkadaver eingeliefert, die auf dem aus Bourgos und Varna eingelaufenen Dampfer Chios aufgefunden waren. Einer dieser Kadaver zeigte die für Pest charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen. Die gefärbten Organaustriche enthielten zwar nur vereinzelt Mikroorganismen, welche sich in Form und Färbbarkeit wie Pestbakterien verhielten, daneben fanden sich aber besonders zahlreiche ringförmige Gebilde, wie wir sie schon häufig nach Verimpfung wenig virulenter Pestkulturen in den Kadavern der infizierten Tiere gefunden hatten. Außerdem fielen zahlreiche lange Fäden auf, die wir für Fäulnisbakterien hielten.

Der Fall wurde sofort als pestverdächtig gemeldet. Innerhalb 24 Stunden ließen sich mit den aus einem Bubo angesetzten Kulturen schon Agglutinationsversuche vornehmen, die positiv ausfielen. Alle aus sonstigen Organen angesetzten Kulturen waren von Fäulnisbakterien völlig überwuchert.

Für die Agglutinationsversuche pflegen wir das im Pasteurschen Institut präparierte Trockenpestserum zu verwenden. Dasselbe kommt bekanntlich in Gläschen zum Versandt, die 1 g Trockenrückstand enthalten. Durch Zusatz von 10 ccm Wasser wird ein dem ursprünglichen flüssigen Serum entsprechendes Präparat und aus diesem werden geeignete Verdünnungen für die Agglutinationsversuche hergestellt. Bei Vorversuchen, wie sie hier in Frage kommen, pflegen wir zunächst Verdünnungen von 1:200 (also 1 Teil Trockenserum auf 2000 Teile Wasser) zu verwenden. Wird die Aufschwemmung der verdächtigen Kultur bei dieser Probe prompt agglutiniert, eine Vergleichsprobe, bei welcher nur 10—50-fach verdünntes normales Pferdeserum angewendet wurde, dagegen nicht, so erachten wir die Agglutinationsprobe als positiv. Sobald die Kulturen hinreichend gewachsen sind, wird durch weitere Versuche festgestellt, bei welcher äußersten Verdünnung noch Agglutination eintritt. Die stets gleichzeitig mit Pestreinkulturen vorgenommenen Agglutinationsversuche ergaben in der Regel Resultate, die mit den-

jenigen der frischen Kulturen ziemlich genau übereinstimmten. Nur in einem noch zu beschreibenden Falle wurden die frisch isolierten Kulturen stärker agglutiniert als unsere Sammlungskulturen.

In dem Falle Chios hatten wir mehrere Ratten mit abgestuften Mengen einer Aufschwemmung aus dem zerkleinerten Bubo und der Milz des vorhin erwähnten eingelieferten Rattenkadavers intraperitoneal bzw. subkutan geimpft. Eine dieser Ratten, welcher die größte Menge, nämlich 2 ccm, der Aufschwemmung eingespritzt worden war, starb innerhalb 20 Stunden mit einem für Pest charakteristischen Sektionsbefund. In den gefärbten Organausstrichen waren aber Bakterien mikroskopisch nicht auffindbar. Auch auf den angesetzten Kulturen kamen später nur vereinzelt Kolonien zur Entwicklung. Diese Ratte mußte mithin einer Intoxikation erlegen sein. Aus Anlaß dieses Befundes haben wir später Wert darauf gelegt, nicht nur normale Ratten, sondern auch solche zu impfen, welche vorher durch wenig virulente Pestbakterien immunisiert waren. Auch haben wir später einzelnen Tieren gleichzeitig mit dem Impfmateriale Pestserum eingespritzt. Blieben diese Tiere leben, während die mit dem pestverdächtigen Materiale geimpften normalen Tiere zu Grunde gingen, so sprach das Ergebnis für die Pestnatur des verdächtigen Materiales. Dieses Hilfsmittel hat, wie wir noch sehen werden, unsere diagnostischen Arbeiten später sehr erleichtert.

Auch im Falle Chios haben wir 24 Stunden nach Einlieferung des Materiales gemeldet, daß sich der Pestverdacht weiter bestätigt hätte, jedoch erst nach etwa 3mal 24 Stunden nach Einlieferung der Ratte berichtet, daß die Pestdiagnose sicher gestellt sei, nachdem um diese Zeit eine weitere geimpfte Ratte gestorben war, in deren Organen sich, wenn auch nur vereinzelt, Bakterien nachweisen ließen, die das Aussehen von Pestbakterien hatten.

Nachdem auf dem Dampfer inzwischen Rattengift ausgelegt worden war, wurden später noch 18 weitere Rattenkadaver eingeliefert, von denen 11 die Erscheinungen einer Phosphorvergiftung aufwiesen und 2 vollständig ausgetrocknet waren. Pestbakterien wurden in keinem der später eingelieferten Kadaver gefunden, mithin erwies sich nur eine der auf dem Dampfer gefundenen Ratten als mit Pestbakterien behaftet.

In Betreff der Untersuchungen auf Phosphorvergiftung, die wir bei ähnlichen Anlässen sehr häufig vorzunehmen haben, mag hier gleich erwähnt sein, daß wir uns in der Regel nicht nur auf die Konstatierung des intensiven Geruches nach Phosphor, den der Mageninhalt der Kadaver aufweist und der charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen beschränkt haben, sondern auch noch folgende Untersuchungsmethodik zur Anwendung brachten. Da die als Rattengift benutzten Phosphorpräparate in der Regel ein mit Arsen verunreinigtes Handelsprodukt darstellen, so suchen wir letzteres mit Hilfe des *Penicillium brevicaulis* nachzuweisen¹⁾. Die zu untersuchenden Organe werden zerkleinert und mit Brot gemischt. Das Gemenge wird in einem Erlenmeyerschen Kölbchen sterilisiert, nach Abkühlen mit dem genannten Schimmelpilz infiziert, mit Gummikäppchen verschlossen bei 32° bebrütet. Nach Ablauf von etwa 24 Stunden macht sich oft schon der knoblauchartige Geruch geltend, der nach Biginelli bekanntlich auf Diäthylarsin zurückgeführt wird.

1) A bel u. B u t t e n b e r g, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. 1899.

Das nächste Schiff, welches uns pestinfizierte Ratten brachte, war der Dampfer Westphalia, der von Rosario-Montevideo kommend, im März 1903 einlief, und auf welchem bei Beginn der Entlöschungsarbeiten 22 Rattenkadaver aufgefunden wurden. Die Sektion ergab bei sämtlichen Kadavern den für Pest charakteristischen pathologisch-anatomischen Befund. Auch fanden sich in den gefärbten Organausstrichen reichlich Bakterien, welche in Form und Färbbarkeit Pestbakterien glichen.

Auch in diesem Falle hatten sich die Kulturen innerhalb 24 Stunden soweit entwickelt, daß ein Agglutinationsversuch ausgeführt werden konnte. Derselbe verlief positiv. Im Anschluß daran wurde eine Ratte getötet, welche mit 2 ccm einer Organaufschwemmung subkutan geimpft worden war. Bei der Sektion zeigten sich die für Pest charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen in ausgesprochener Weise, und es konnten in den Organen des getöteten Tieres auch schon reichlich Bakterien nachgewiesen werden, die sich wie Pestbakterien verhielten.

Auf Grund obiger Befunde haben wir in diesem Falle schon innerhalb 24 Stunden nach Einlieferung des Materiales die amtliche Diagnose auf Pest abgegeben. Nach Ablauf von 48 Stunden starben 3 subkutan geimpfte Ratten spontan und zwar mit einem für Pest typischen Befunde. In den früheren Fällen hatten wir vor Abgabe der amtlichen Pestdiagnose den spontanen Tod eines der geimpften Tiere stets abgewartet. Aus nachher anzuführenden Gründen werden wir in Zukunft, wenigstens, wenn es sich um die Untersuchung von bereits in Fäulnis geratenen Rattenkadavern handelt, auf diese Vorsichtsmaßregel wieder zurückkommen.

Die vorhin schon erwähnte Maßnahme, außer normalen auch immunisierte Ratten zu impfen bezw. normalen Ratten gleichzeitig mit dem Impfmateriäl Pestserum einzuspritzen, hat sich im Falle der Westphalia vortrefflich bewährt: Wir pflegen die eingelieferten Rattenkadaver sämtlich so schnell wie möglich zu sezieren und von demjenigen, welcher den ausgesprochensten Pestbefund ergibt, eine größere Zahl von Versuchstieren sofort zu impfen sowie auch reichlich Kulturen gleich anzusetzen. Mit Material von einer solchen Ratte wurden auch im Falle der Westphalia die immunen Tiere bezw. die mit spezifischem Serum behandelten Tiere geimpft. Sämtliche normalen bezw. ohne Zugabe von spezifischem Serum geimpften Ratten starben innerhalb 2—3 Tagen. Die pestimmune Ratte blieb am Leben. Eine der gleichzeitig mit spezifischem Pestserum behandelten Ratten starb zwar auch mit Pestbefund, doch erst am 8. Tage nach der Impfung. Auch von einem zweiten pestverdächtigen Rattenkadaver wurde eine Ratte unter gleichzeitiger Einspritzung von spezifischem Serum und eine zweite Ratte zur Kontrolle ohne Serum infiziert. Die Serumratte dagegen blieb munter. Als sie am 13. Tage getötet wurde, zeigte sie keinen Pestbefund, auch ließen sich aus ihr kulturell keine Pestbakterien gewinnen. Die letzteren waren mithin unter dem Einfluß des Serums offenbar zu Grunde gegangen.

Nähere Angaben über die Art der von uns bei vorliegendem Pestverdacht vorgenommenen Impfungen finden sich weiter unten. In betreff der Westphalia möchten wir noch folgendes berichten. Schon bald nach Meldung des Pestverdacht es war das Schiff vom Quai abgelegt und mit dem bekannten Nocht-Giemsa'schen Kohlenoxydapparat, der zur Zeit der Fälle „Pergamon“ und „Chios“ noch nicht vorhanden war, behandelt

worden. Nach Beendigung dieser Prozedur wurden noch 112 weitere Ratten und 181 Mäuse eingeliefert, die sämtlich die Erscheinungen der Kohlenoxydvergiftung darboten. Im ganzen wurden auf der Westphalia 31 pestinfizierte Ratten und eine mit Pestbakterien behaftete Maus gefunden. 4 Ratten und die Maus waren der Kohlenoxydvergiftung erlegen, hatten aber gleichzeitig Pestbakterien. Somit war die Pestepidemie auch bei der Westphalia noch nicht abgelaufen.

Die erwähnten 181 Mäuse stammten alle aus ein und demselben Raume des Schiffes. Es ist auffallend, daß nur eine pestinfizierte Maus darunter gefunden wurde. Auch erscheint es nicht uninteressant, daß sich in dem betreffenden Raume nicht eine einzige Ratte fand. In einem anderen Schiffsraume dagegen waren 131 Rattenkadaver aufgefunden worden, darunter 29 Pestratten.

Kurz nach Einlieferung des ersten pestverdächtigen Kadavers begaben wir uns nach dem Quai, an welchem die Westphalia entlöschet wurde, um verschiedenartige Proben zur Untersuchung auf Pestbakterien zu entnehmen. Bei dieser Gelegenheit fanden wir im Schuppen auf den entlöschten Waren einen Rattenkadaver, in welchem sich bei der Untersuchung im Laboratorium später Pestbakterien nachweisen ließen. Dieser Nachweis gelang einerseits durch die Gelatineplatten, während alle anderen Kulturen versagten, weil sie sehr schnell durch Fäulnisbakterien überwachsen waren, andererseits gelang es durch zwei kutan bzw. subkutan geimpfte Meerschweinchen, die am 5. bzw. 6. Tage mit typischem Pestbefund eingingen. Von drei subkutan geimpften Ratten und einer gefütterten Ratte dagegen ist keine eingegangen. Von diesen 4 Ratten wurden 3 am 11. bzw. 12. Tage getötet. Sie ergaben einen normalen Befund. Pestbakterien waren in ihren Organen nicht nachweisbar.

Schließlich sei das Untersuchungsergebnis einer lebend eingefangenen, vom Dampfer Westphalia stammenden jungen Ratte erwähnt. Der Sektionsbefund war durchaus negativ, auch auf den angesetzten Kulturen kamen Mikroorganismen überhaupt nicht zur Entwicklung. Mit den Organen dieses lebend eingefangenen Tieres wurden gleichzeitig Meerschweinchen und Ratten geimpft. Von den Ratten ist keine eingegangen. Als sie am 7., bzw. 11., bzw. 12. Tage getötet wurden, zeigten sie keinerlei Veränderungen. Auch entwickelten sich aus den angesetzten Kulturen keine Bakterien. Ein kutan geimpftes Meerschweinchen starb aber am 7. Tage nach der Impfung mit ausgesprochenem Pestbefund. Die aus den Organen dieses Meerschweinchens geimpften Ratten gingen mit einem für Pest typischen Befund ein. In diesem Falle versagten also sowohl die Kulturen, als auch die Rattenimpfung, und der sichere Nachweis der Pestbakterien gelang nur mit Hilfe des Meerschweinchens.

Bei den bislang beschriebenen Fällen wickelten sich die Untersuchungen ziemlich glatt ab, und es stellten sich dabei erhebliche Schwierigkeiten nicht heraus. Immerhin dürfte aus unseren Darlegungen schon so viel hervorgehen, daß man sich sehr davor hüten sollte, bei Untersuchungen pestverdächtigen Materials ganz schematisch zu verfahren. Der Untersuchungsgang sollte der von Fall zu Fall sich ergebenden Sachlage individualisierend angepaßt werden.

Oft haben wir vor der Frage gestanden, in welchem Momente es gerechtfertigt sei, die amtliche Meldung abzugeben, daß die Diagnose auf Pest sichergestellt sei. Wie aus unseren Beschreibungen hervor-

geht, haben wir diese Frage von Fall zu Fall verschieden beantwortet. Meldet man, daß die Diagnose auf Pest sichergestellt sei, so werden auf Grund dieser Meldung gelegentlich so weitgehende Maßnahmen erforderlich, daß eine spätere Aenderung der Diagnose unter allen Umständen vollständig ausgeschlossen sein sollte. Nun fragt es sich, kann eine Diagnose als sichergestellt angesehen werden, ehe man im Besitze von Reinkulturen ist? Ein böser Zufall könnte selbst in dem Falle, daß die Pestdiagnose richtig war, das Gelingen der Reinkulturen, wie wir noch sehen werden, ungewöhnlich lange hinausschieben. So lange man nicht in der Lage ist, an Reinkulturen alle geeigneten Prüfungen zur Identifizierung der isolierten Bakterien auszuführen, wird man der immer wieder gegen die Richtigkeit der gestellten Diagnose zu erhebenden Bedenken nicht Herr werden können. Hat man nun auf Grund von Befunden, wie sie oben beschrieben wurden, die amtliche Diagnose abgegeben, so fühlt man sich bis zur Gewinnung der Reinkultur naturgemäß für alle seitens der Behörden eingeleiteten, bisweilen sehr durchgreifenden und kostspieligen Maßnahmen persönlich verantwortlich, und wenn das Gelingen der Reinkultur sich, wie in dem gleich zu beschreibenden Falle, nicht allein von Stunde zu Stunde, sondern sogar von Tag zu Tag weiter hinauszögert, so gelangt man allmählich in eine nicht nur unangenehme, sondern geradezu unerträgliche Lage.

Im Hinblick auf die einleitend dargelegten Verhältnisse wird jeder Bakteriologe von dem Wunsche beseelt sein, die Sicherstellung der Diagnose so schnell wie irgend möglich zu bewirken. Denn, hat man den Pestverdacht ausgesprochen, so müssen die zuständigen Behörden sofort eine ganze Reihe von Maßregeln treffen auf die Gefahr hin, daß sie sie in den nächsten Tagen, wenn der erste Verdacht sich nicht bestätigt, wieder rückgängig machen müssen. Das ist für die ausführenden Behörden ebenso unangenehm, wie für den Bakteriologen.

Wenn wir uns trotzdem auf Grund der gemachten Erfahrungen entschlossen haben, bis auf weiteres die Diagnose als sichergestellt nur zu melden, nachdem wir im Besitze der Reinkulturen sind, so sind uns die nachstehend beschriebenen Beobachtungen hierfür maßgebend gewesen.

Am 28. Dezember 1903 wurden auf dem aus Santos kommenden Dampfer Cordoba 6 Ratten aufgefunden, die sämtlich das Bild hochgradiger Fäulnis aufwiesen. Nur bei einer dieser Ratten ließen sich die für Pest charakteristischen pathologisch-anatomischen Merkmale noch andeutungsweise erkennen. In allen Organen dieser Ratte, insbesondere auch in den vergrößerten Drüsen, fanden sich zahlreiche Mikroorganismen, die in Form und Färbbarkeit Pestbakterien glichen (siehe Fig. 1, Tafel I u. II). Der Fall wurde sofort als dringend pestverdächtig gemeldet.

Den Gang, den die Untersuchung dieses Kadavers nahm, möchten wir etwas eingehender beschreiben, als es in den vorhergehenden Fällen geschehen ist: Dem eben erwähnten pestverdächtigen Rattenkadaver wurde ein Stück Leber entnommen, fein zerschnitten und in mehreren Kubikcentimetern Bouillon aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung wurden 3 Ratten subkutan geimpft und zwar eine mit 2 ccm, eine mit 1 ccm und eine mit $\frac{1}{2}$ ccm. Einer Ratte wurde mittels Platinöse ein Organstück in die Schnauze gerieben, dann ließen wir das Organstück durch das Tier von der Platinöse abzerren. Einer weiteren Ratte wurde ein Stück Organ auf der Augenschleimhaut verrieben. Darauf wurde

einem Meerschweinchen 1 ccm der erwähnten Aufschwemmung subkutan beigebracht. Einem anderen Meerschweinchen wurde auf die rasierte, jedoch nicht skarifizierte Rückenhaut ein Stück Leber verrieben. Dann wurde einer 14 Tage vorher durch avirulente Pestbakterien immunisierten Ratte 1 ccm der erwähnten Aufschwemmung subkutan beigebracht. Schließlich erhielt eine Ratte 1 ccm dieser Aufschwemmung gleichzeitig mit $\frac{1}{2}$ ccm französischen Pestserums subkutan eingespritzt.

Während dieser Impfungen wurden hängende Tropfen angesetzt, um die aufgefundenen Bakterien auf Beweglichkeit zu prüfen. Ferner wurden Drüse, Milz, Leber und Lunge des verdächtigen Kadavers auf erstarrten Gelatine-, Agar- und Blutserumplatten ausgestrichen. Schließlich wurden Salzagarkulturen angesetzt und Kontrollkulturen von einer Pestreinkultur. Die Gelatinekulturen kamen in einen auf 18° C eingestellten Brutschrank, die übrigen Kulturen auf 32° C.

Als die Kulturen 12 Stunden nach der Impfung untersucht wurden, zeigten sie sich bis auf die Gelatinekulturen, von denen später noch die Rede sein wird, sämtlich von üppig wachsenden Fäulnisbakterien vollständig überwuchert. Nur auf einer aus einer Drüse angesetzten Agarplatte fanden sich nach Ablauf von 24 Stunden noch einzelne kleine Inseln, die makroskopisch wie Pestausstrichkulturen aussahen. Die sofort vorgenommenen Abimpfungen von dieser Stelle ergaben innerhalb 12 Stunden wieder üppige Kulturen von fremden Bakterien. In den Agglutinationsproben dagegen bildeten sich große Flocken, welche sich nach dem mikroskopischen Bilde aus pestähnlichen Bakterien zusammensetzten. Dazwischen schwammen aber zahlreiche Fäulnisbakterien umher. Die Proben blieben trübe und beim Bebrüten wurde ihre Trübung schnell intensiver.

Kulturell war also, wie es schien, mit dem aus dem Kadaver gewonnenen Material vorderhand nichts anzufangen. 24 Stunden nach der Impfung wurde die Ratte getötet, der 1 ccm Leberaufschwemmung subkutan eingespritzt worden war. Sie zeigte einen typischen Pestbefund mit bohngroßen Inguinaldrüsen und vergrößerter schwarzroter Milz. In den Ausstrichpräparaten, die in großer Zahl untersucht wurden, fanden sich aber im ganzen nur etwa ein Dutzend Bakterien und zwar ausschließlich in der linken Inguinaldrüse. Die angesetzten Kulturen zeigten nach Ablauf von 12 Stunden schon Wachstum beweglicher Bakterien. Auf Grund des bei dieser Ratte erhobenen Befundes ließ sich mithin eine Sicherstellung der Diagnose nicht ermöglichen.

Etwa 40 Stunden nach der Impfung waren sämtliche übrigen Tiere noch munter. Nunmehr wurde die Ratte, welche 2 ccm der Aufschwemmung injiziert erhalten hatte, getötet. Sie zeigte einen für Pest charakteristischen Sektionsbefund. In den Organen waren nur wenige Bakterien nachweisbar, die zum Teil wie Pestbakterien aussahen, zum Teil aber anderen Bakterienarten anzugehören schienen. Wenngleich wir überzeugt davon waren, daß wir es mit einem positiven Pestfall zu tun hatten, so reichten die vorliegenden Befunde auch jetzt zur Abgabe der amtlichen Diagnose noch nicht aus. Wir entschlossen uns dazu, das subkutan geimpfte Meerschweinchen, welches recht krank aussah, zu töten. Die Sektion ergab eine ungewöhnlich starke Injektion des subkutanen Gewebes, halbhaselnußgroße hämorrhagische Drüsen mit ödematöser Umgebung und in den Bubonen sehr zahlreiche Bakterien, die im gefärbten Ausstrichpräparat wie typische Pestbakterien aussahen und nach dem Befunde im hängenden Tropfen unbeweglich schienen. Auf diesen

Befund hin wurde jetzt, also ca. 45 Stunden nach der Einlieferung des Materials, die amtliche Meldung erstattet, daß die Pestdiagnose sicher gestellt sei.

In unserer Hoffnung, die Reinkulturen einen Tag später in Händen zu haben, wurden wir enttäuscht. Schon 12 Stunden nach der Impfung waren sämtliche aus dem Meerschweinchen angesetzten Kulturen mit üppigem Wachstum von Fäulnisbakterien überzogen.

Auf den Gelatineplatten, die aus der Drüse der eingelieferten pestverdächtigen Ratte angesetzt waren, zeigten sich erst 48 Stunden nach Ansetzen derselben die ersten Andeutungen von Wachstum. In den angefertigten Klatschpräparaten fanden sich Gebilde, die man für Pestbakterien hätte halten können. Auf den daraus angesetzten und bei 32° C bebrüteten Kulturen ergab sich aber sehr schnell ein üppiges Wachstum von Fäulnisbakterien. Es mag hier jedoch gleich vorweg erwähnt sein, daß es am 2. Januar, also am 5. Tage nach der Einlieferung, schließlich doch noch gelungen ist, Pestbakterien von der eben erwähnten Originalgelatineplatte in Reinkultur zu erhalten. Hätte man die Gelatineplatte, wie es sonst geschehen war, bei 23° C bebrütet, so wäre auch sie nach 24 Stunden voraussichtlich schon von Fäulnisbakterien verflüssigt oder überwachsen gewesen.

Am 30. Dezember abends und zwar 52 Stunden nach der Einlieferung des Kadavers starb endlich eine der subkutan geimpften Ratten spontan. Das Unterhautzellgewebe zeigte sich bei der Sektion stark injiziert. In der Achselhöhle und der Inguinalgegend fanden sich bohnen-große Drüsen, an einer Seite, entsprechend der Impfstelle, ein eiteriger Absceß. Die Milz war schwarzrot und maß 7 : 1,9 : 1 cm und reichte bis auf den Beckengrund hinunter. Eine ähnlich große Milz haben wir bei Ratten kaum noch gesehen. Die Leber erwies sich stark vergrößert, mit zahlreichen kleinen, nekrotischen Herden übersät. Die Lunge zeigte makroskopisch keine Veränderungen. Unsere Erwartung, alle Organe voll von Pestbakterien zu finden, erfüllte sich nicht. In keinem Organe fand sich bei eifriger Untersuchung auch nur ein einziges Bakterium. Nur der eiterige Absceß enthielt Mikroorganismen verschiedenster Art.

Auf Gewinnung einer Reinkultur war mithin auch jetzt noch keine sichere Aussicht vorhanden. Immerhin gereichten uns die folgenden Tatsachen wesentlich zur Beruhigung. Die vorhin erwähnte 14 Tage vor der Impfung immunisierte Ratte lebte noch und schien völlig munter, obgleich ihr doppelt so viel von der Aufschwemmung subkutan eingespritzt worden war als dem spontan eingegangenen Tiere. Auch die Ratte, der bei der Impfung gleichzeitig Pestserum eingespritzt worden war, erschien noch völlig munter. Es war nicht anzunehmen, daß das Pestserum das Versuchstier vor einem anderen als dem Pestgift in so ausreichendem Maße geschützt haben würde. Auch konnten wir im Hinblick auf die intensiven, bei der spontan eingegangenen Ratte konstatierten Veränderungen nicht glauben, daß die pestimmunisierte Ratte einer doppelt so großen Giftmenge hätte widerstehen können, falls es sich nicht um Pestgift handelte.

Am 31. Dezember, also am 4. Tage nach der Einlieferung des verdächtigen Materials, starb eins der Meerschweinchen, dem ein Stück Leber des verdächtigen Kadavers auf der Rückenhaut eingerieben worden war. Dieses Meerschweinchen zeigte wiederum einen für Pest typischen Sektionsbefund, und zwar waren alle Organe voll von Bakterien, die das Aussehen von Pestbakterien hatten und sich im hängenden Tropfen als

unbeweglich erwiesen. Daneben waren aber in den Organen auch fremdartige Bakterien nachweisbar. Es sei hier gleich erwähnt, daß wir aus diesem Meerschweinchen zuerst völlig einwandfreie Reinkulturen gewonnen haben.

Die Durchsicht der Kulturen ergab am 31. Dezember, also am 4. Tage nach der Einlieferung des verdächtigen Kadavers, noch nirgends die Möglichkeit, eine einwandfreie Agglutinationsprobe auszuführen. Zwar zeigten die Agar- und Blutserumplatten, die aus der am Abend vorher spontan eingegangenen Ratte gewonnen waren, im ganzen Ausstrich ein sehr zartes Wachstum von Bakterien, die im gefärbten Präparat wie Pestbakterien aussahen und unbeweglich waren. Ein Agglutinationsversuch scheiterte aber daran, daß diese Kulturen sowohl im Agar- wie auch im erstarrten Serum festhafteten und sich von den Platten nicht trennen ließen ohne Mitnahme des Nährmediums.

Auf vielen der angesetzten Platten waren inzwischen Kolonien aufgetreten, die makroskopisch und auch bei 70-facher Vergrößerung wie Kolonien von Pestbakterien aussahen. Die darin gefundenen Bakterien ließen sich zumeist auch im gefärbten Präparat von Pestbakterien kaum unterscheiden. Sie waren aber durchweg beweglich. In einem hängenden Tropfen, der aus einer Drüse der spontan eingegangenen Ratte angesetzt war, fanden sich lange Ketten unbeweglicher Bakterien, welche an die Formen erinnerten, wie man sie bei Pestbakterien in Bouillonkulturen findet.

Angesichts des höchst unbefriedigenden Standes, den die Untersuchungen bis zum 31. Dezember erreicht hatten, konnten wir die immer wieder in uns auftretenden Zweifel an der Richtigkeit der gestellten Diagnose nur zerstreuen einerseits durch Würdigung der Tatsache, daß die pestimmune und die mit Pestserum geschützte Ratte noch immer völlig munter waren. Daneben setzten wir, wie gesagt, unsere Hoffnungen auf das kutan geimpfte Meerschweinchen, denn solche Bakterien, welche bei kutaner Einreibung, ohne Skarifikation Meerschweinchen mit Pestbefund töteten, sind bislang nicht bekannt geworden.

Tatsächlich gelang es denn auch am 1. Januar, also am 5. Tage nach der Einlieferung des pestverdächtigen Kadavers, endlich den Agglutinationsversuch einwandfrei auszuführen; aus einer Drüse des eben erwähnten Meerschweinchens waren auf Agar- sowohl als auch auf Blutserumplatten Kulturen zur Entwicklung gekommen, die sich makroskopisch und bei 70-facher Vergrößerung wie Pestkolonien verhielten, sich beim Berühren fadenziehend zeigten und unbewegliche Bakterien enthielten, die im gefärbten Präparat Polfärbung aufwiesen. In 200-fach verdünntes spezifisches Pestserum geimpft, wurden sie sofort körnig. Die zur Kontrolle ebenso behandelte Pestreinkultur wurde nicht so schnell und prompt agglutiniert. In normalem Pferdeserum 1 : 50 blieb die gewonnene Kultur völlig homogen. An demselben Tage fanden sich auch auf den Platten, welche aus den Organen der am 30. Dezember getöteten Ratte angesetzt waren, isolierte Kolonien von Pestbakterien.

Somit waren am 5. Tage nach Einlieferung des pestverdächtigen Materials endlich alle für die Sicherstellung der Pestdiagnose in Betracht kommenden Kriterien erfüllbar. Das Schiff war inzwischen schon desinfiziert und freigegeben worden. Hätte man mit der Diagnose bis jetzt gezögert, so wären für die Durchführung der notwendigen Sicherheitsmaßregeln 5 wichtige Tage verloren gegangen.

Im ganzen hatten wir im Zusammenhange mit dem einen pestver-

dächtigen Kadaver 35 Tiere geimpft und mehrere Hundert Kulturen angelegt. Berücksichtigt man, daß wir außer dieser einen Ratte während der in Frage kommenden Tage von demselben Schiffe noch weitere 138 Ratten und zwischendurch noch Ratten zu untersuchen hatten, die von 3 anderen pestverdächtigen Schiffen eingeschickt worden waren, und daß wir 5 Tage im Zweifel darüber blieben, ob wir die gestellte Diagnose durch Gewinnung von Reinkulturen würden erhärten können, so kann man sich einen ungefähren Begriff davon machen, wie es in unseren Laboratorien um die Zeit der Jahreswende zugeht.

Der weitere Untersuchungsgang bei der Cordobaratte bot nicht mehr viel Interessantes. Von Tag zu Tag kamen jetzt in schneller Reihenfolge weitere Bestätigungen für die Richtigkeit der gestellten Diagnose. Wir möchten nur hervorheben, daß die in die Schnauze geimpfte Ratte am 5. Tage mit typischem Pestbefund einging. Die ins Auge geimpfte Ratte ist überhaupt nicht erkrankt. Die mehrfach erwähnte pestimmunisierte Ratte starb am 5. Tage nach der Impfung mit ausgesprochenem Pestbefund. In ihren Organen fanden sich aber neben Pestbakterien die schon erwähnten Bakterien, welche innerhalb 12 Stunden sämtliche Kulturen zu überwuchern pflegten. Am 7. Tage starb auch die mit Pestserum geschützte Ratte mit typischem Pestbefund. Mithin verließ auch in diesem Falle die vorherige Behandlung mit avirulenten Pestbakterien ebensowenig einen vollständigen Schutz, wie die Einspritzung von Pestserum. Es scheint aber zu gelingen, die Ratten durch diese beiden Behandlungsarten vor der Intoxikation durch das verimpfte Material zu schützen, welcher die subkutan oder intraperitoneal geimpften Tiere sonst gelegentlich schon innerhalb 12—24 Stunden erliegen. Insofern betrachten wir beide Behandlungsarten, wie aus unseren obigen Darlegungen hervorgeht, als ein wichtiges Hilfsmittel bei der bakteriologischen Pestdiagnose.

In betreff der mehrfach erwähnten Begleitbakterien, die sich in den Versuchstieren immer wieder fanden, möchten wir noch hinzufügen, daß diese zwar beweglich sind und auch durch Pestserum nicht agglutiniert werden, daß sie aber im gefärbten Präparat große Ähnlichkeit mit Pestbakterien aufweisen. Diese Mikroorganismen sind für Meerschweinchen sowohl als auch für Ratten pathogen. Bei subkutaner Verimpfung töten sie beide Tierarten mit einem für Pest charakteristischen Befund. Bei Ratten z. B. vermißt man nicht die Injektion des subkutanen Gewebes, sowie die Vergrößerung und die schwarzrote Färbung der Milz. Im Tierkadaver findet man nach Verimpfung von Reinkulturen dieser Bakterien viele Formen, die im gefärbten Präparat große Ähnlichkeit mit Pestbakterien zeigen.

Die großen Schwierigkeiten, die sich im Falle der Cordobaratten einer Sicherstellung der Diagnose, namentlich der Gewinnung einer Reinkultur entgegenstellten, lagen darin begründet, daß sich in dem eingelieferten Pestrattenkadaver neben Pestbakterien noch eine zweite für Ratten und Meerschweinchen pathogene Mikroorganismenart fand, welche auf unseren Nährmedien ungleich schneller wächst als die Pestbakterien und somit das Wachstum der letzteren vollständig überwuchert. Bei kutaner Einreibung auf die nicht skarifizierte Haut von Meerschweinchen dringen diese Bakterien, soweit wir bis jetzt feststellen konnten, in das Versuchstier nicht ein. Wir erachten deshalb diese von Albrecht und Ghon vorgeschlagene Impfmethode als für die Pestdiagnose unentbehrlich.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß nach Behandlung der Cordoba mit Kohlenoxyd noch 127 Rattenkadaver aufgefunden wurden, sowie eine Maus und ein Frosch. Das Schiff hatte mithin im ganzen 139 Ratten beherbergt. Davon befanden sich 21 im Zustande stinkender Fäulnis bezw. völliger Austrocknung, sämtliche übrigen Ratten zeigten die Symptome der Kohlenoxydvergiftung. Unter den letzteren fand sich keine mit Pestbakterien behaftete, während unter den faulig zersetzten Kadavern noch zwei weitere aufgefunden wurden, in denen sich Pestbakterien nachweisen ließen. Die Pestepidemie war auf der Cordoba also aller Wahrscheinlichkeit nach schon abgelaufen.

Interessant war uns die Tatsache, daß in dem Schiffsraume, wo die Pestratten gefunden wurden, überhaupt keine lebenden Ratten mehr existiert haben.

Nachdruck verboten.

Die Bestimmung kleinster Mengen Diphtherieantitoxins.

[Aus dem kgl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Stabsarzt Prof. Dr. E. Marx.

Auf dem 11. internationalen Kongresse für Hygiene und Demographie zu Brüssel habe ich eine auf Veranlassung und in Gemeinschaft mit Herrn Geheimrat Ehrlich ausgearbeitete Methode des quantitativen Nachweises kleinster Mengen Diphtherieantitoxins vorgetragen. Die Grenze des damals Erreichten war der exakte Nachweis von $\frac{1}{600}$ A.E., doch führte ich damals schon aus, daß es mit anderen Giften, die für solche Bestimmungen noch besser sich eigneten, fraglos gelingen würde, noch kleinere Bruchteile einer Immunitätseinheit sicher nachweisen zu können.

Im folgenden soll nun über Untersuchungen mit einem anderen Gifte berichtet werden, mit dessen Hilfe die vorausgesagte Verfeinerung des Antitoxinnachweises möglich war. Zunächst sei es gestattet, das, was auf dem Kongresse ausgeführt worden war, hier nochmals in den wichtigsten Punkten und mit Bericht über die wichtigsten Experimente zu wiederholen.

Versuche zum Nachweise kleiner Antitoxinmengen sind wiederholt früher gemacht worden, so sei nur Wassermann, Slavyk und Pasini erwähnt. Die Grenze der sicher nachweisbaren Antitoxinmenge liegt bei den üblichen Methoden um 0,1 I.E. herum. Wir gingen nun bei unseren Untersuchungen von dem Versuche aus, die ödemmachende Wirkung des Diphtheriegiftes als Indikator zu benutzen. Da bekanntlich Giftmengen, die erheblich unter der tödlichen oder gar der L+- oder LO-Dose liegen, noch starke lokale Reaktionen auszuüben im stande sind, so war die Aussicht groß, daß es uns mit diesem Indikator gelingen würde, relativ kleine Antitoxinmengen nachweisen zu können.

Bei unseren damaligen Versuchen benutzten wir ein Gift, von dem 0,002 ccm, eine Dose, die $\frac{1}{7}$ der absolut tödlichen entsprach, ausreichte, um in allen Fällen ausgedehntes Oedem an der Injektionsstelle hervorzurufen. Es handelte sich nun also darum, festzustellen, welche Menge

Antitoxin genügt, um diese Dose völlig oder gar nicht mehr sichtbar zu beeinflussen.

Unseren Versuchsanordnungen lagen folgende Erwägungen zu Grunde. Bekanntlich tritt unter normalen Verhältnissen beim Diphtherietoxin und Antitoxin die Vereinigung augenblicklich ein. Es bezieht sich diese experimentell sichergestellte Tatsache auf immerhin konzentrierte Lösungen. Bei den großen Verdünnungen, mit denen wir arbeiteten, mußte natürlich mit einer Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeiten gerechnet werden. Um dieser Möglichkeit zu begegnen, ließen wir die Gemische länger aufeinander einwirken, und zwar in der Weise, daß die Mischungen zunächst für 2 Stunden in den Brütschrank von 37° kamen und dann 22 Stunden im Eisschranke gehalten wurden. Die Gesamtdauer der Berührung betrug mithin 24 Stunden. Selbstverständlich wurden die in allen Versuchen angesetzten Kontrollversuche nur mit 0,002 Gift genau in derselben Weise behandelt, nur daß an Stelle der Serumverdünnung das entsprechende Volumen physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt wurde.

Rationell ist es dann auch, die zu injizierende Flüssigkeit möglichst zu beschränken. Einmal erhält man so streng lokalisierte und darum feinere Reaktionen, und dann lassen sich bei Benutzung kleiner Injektionen (wir benutzen fast stets 0,5 ccm und nur in vereinzelt Fällen aus rechnerischen Gründen 0,6 ccm, niemals aber höhere Dosen) an einem Meerschweinchen gleichzeitig 2 Prüfungen vornehmen. Sämtliche Tiere werden nach 2×24 Stunden getötet und ergibt dann die Obduktion den Ausfall der Versuche.

Mit diesem hier erwähnten Gifte erhielten wir damals folgende Resultate.

Serumdosis	Giftosis	Erfolg
$\frac{1}{400}$ I.E.	0,002	Injektionsstelle glatt
$\frac{1}{500}$ "	0,002	mäßiges Oedem, viel geringer als Kontrolle
$\frac{1}{600}$ "	0,002	starkes Oedem, wie Kontrolle
$\frac{1}{800}$ "	0,002	desgl.
Kontrolle	0,002	starkes Oedem

$\frac{1}{400}$ I.E. reichte also zur völligen Neutralisierung unserer Giftosis aus. $\frac{1}{500}$ I.E. übte einen bedeutenden Neutralisierungseffekt aus, während dagegen $\frac{1}{600}$ I.E. die erste Dosis war, bei der eine Beeinflussung nicht mehr im Tierexperiment hervortrat.

Zur Bestimmung des Antitoxingehaltes eines Serums nach dieser Methode kann man sich nun sowohl an den neutralisierenden Wert wie an den gerade nicht mehr sichtbar beeinflussenden halten. D. h. die kleinste Menge eines Serums, die noch neutralisiert, entspricht der Wirkung, die $\frac{1}{400}$ I.E. ausübte, muß demnach auch diesen Bruchteil einer Immunitätseinheit an Antitoxin enthalten, oder die erste Serumdosis, die bei einer absteigenden Reihe keinen sichtbaren Einfluß mehr ausübt, entspricht in ihrem Antitoxingehalt genau $\frac{1}{600}$ I.E. Wir bedienen uns bei Bestimmungen mit diesem Gift stets dieses letzteren Grenzwertes.

Um ein Beispiel anzuführen, so erhielten wir von einem Serum, dessen Antitoxingehalt festgestellt werden sollte, folgende Reihe.

Serumdosis + 0,002 Gift	Erfolg
0,005	Keine lokale Reaktion
0,004	mäßige Reaktion, geringer als Kontrolle
0,003	starkes Oedem, wie Kontrolle
0,002	desgl.
Kontrolle	starkes Oedem

Es geht aus dieser Uebersicht hervor, daß 0,005 ccm die kleinste Serumdosis ist, die noch die Giftdosis völlig neutralisiert, mithin in ihrem Antitoxingehalt $\frac{1}{400}$ I.E. entspricht, und daß dann die größte Serumdosis, die keinen sichtbaren Einfluß mehr ausübt, 0,003 ccm ist, daß diese Menge also $\frac{1}{600}$ I.E. enthält. Lege ich irgend einen dieser zwei Werte der Berechnung des Antitoxingehaltes zu Grunde, so ergibt sich für 1 ccm des Serums ein Gehalt von 0,5 I.E.

In letzterer Zeit stellte ich nun diese Werte für ein anderes Gift ein und erhielt Resultate, die diese noch bei weitem übertreffen. Wie schon oben angedeutet, ist die mehr oder weniger große Feinheit des Nachweises bei dieser Methode von der Konstitution des Diphtheriegiftes abhängig. Je toxoidreicher zunächst ein Gift ist und je stärker die Toxoidbildung gerade die avidesten Teile des Giftmoleküls betroffen hat, um so weniger feine Resultate werde ich erhalten, da ich dann ja gezwungen bin, stets eine oft beträchtliche Menge Antitoxins zur Absättigung von Giftteilen zu verschwenden, die für das Tier in Bezug auf lokale Giftwirkung indifferent sind. Das Gift, mit dem ich nun in letzterer Zeit gearbeitet habe, besitzt offensichtlich eine gerade für diese Zwecke hervorragend günstige Konstitution, und muß sich bei diesem die Toxoidbildung offenbar in den weniger aviden des Spektrums abspielt haben. Dieser glückliche Umstand gestattete den quantitativen Nachweis ganz unerwartet kleiner Bruchteile einer Antitoxineinheit.

Die Methode ist natürlich dieselbe geblieben. Es handelte sich zunächst darum, auch hier wieder die Testdosis festzulegen. Es zeigte sich, daß 0,0004 ccm entsprechend $\frac{1}{12}$ der tödlichen Dose eine recht kräftige, nie versagende, lokale Reaktion hervorrief und 0,0005 ccm = $\frac{1}{16}$ der absolut tödlichen Dose starkes Oedem am Orte der Injektion erzeugte. Ich arbeitete mit der letzteren Dosis und erhielt unter Fortlassung der ersten Einstellungen, die sich zu weit in den neutralisierenden Dosen bewegten, folgende Resultate:

Serumdosis + 0,0005 Gift	Erfolg
$\frac{1}{600}$ I.E.	Injektionsstelle glatt
$\frac{1}{800}$ "	desgl.
$\frac{1}{1000}$ "	Injektionsstelle glatt, minimale Rötung
$\frac{1}{1200}$ "	desgl.
$\frac{1}{1500}$ "	Oedem, schwächer als Kontrolle
$\frac{1}{2000}$ "	starkes Oedem wie Kontrolle
Kontrolle	starkes Oedem

In Anbetracht dieser außerordentlich günstigen Resultate ist es bei diesem Gifte, selbst bei Stellung der höchsten Forderungen, möglich, auf die kleinste, nicht mehr neutralisierende Serumdosis als Grenzwert zu verzichten und an deren Stelle hier diejenige Dosis für die Bestimmung des Antitoxingehaltes von Seris zu nehmen, die bei dieser Methode 0,0005 ccm Gift bis auf den LO-Wert neutralisiert.

Lege ich also den Glattwert zu Grunde, so ist $\frac{1}{1200}$ I.E. die kleinste Antitoxinmenge, die zu Erzielung des LO-Wertes ausreicht. Da die größte Serummenge, welche bei rationellster Ansetzung des Versuches zu injizieren ist, 0,2 ccm beträgt, so ist also nach diesem Verfahren und bei Benutzung dieses oder eines gleichen Giftes ohne weiteres der Wert eines Serums, das bis zu $\frac{1}{240}$ I.E. in 1 ccm enthält, exakt festzustellen.

Diese Methode ist von Bedeutung für die Lösung mancher Fragen. So sei hier nur an das Vorkommen von Diphtherieantitoxin in dem Blute normaler Tiere erinnert. Für die Diphtherieschutzimpfung ist es gleichfalls von praktischem Werte, da durch dies Verfahren der Gang der Ausscheidung des Diphtherieantitoxins, der minimalen, zum Schutze noch ausreichenden Mengen von Schutzstoffen etc. ermittelt werden kann. Auf diese Punkte ist bereits auf dem Kongresse zu Brüssel unter Vorlegung von Untersuchungsergebnissen eingegangen worden und sei darauf hier verwiesen.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen über feste Nährböden zum Zwecke der Cholerradiagnose.

[Aus dem Königl. hygienischen Institut in Posen. Direktor: Medizinalrat Prof. Dr. Wernicke.]

Von
und

Dr. Hirschbruch,
Assistenten am Institut.

Dr. Schwer,
Oberarzt im Inf.-Reg. 47, kommandiert
zum Institut.

Von festen Nährböden kommen für die Cholerradiagnose Gelatine und Bouillonagar in Betracht, sowie der von uns angegebene Choleraspezialagar¹⁾. Unser Nährboden ist im wesentlichen ein Milchzuckeragar, welcher Lackmus als Indikator enthält. Cholera und das häufigste Darmbakterium, *Bact. coli*, unterscheiden sich insofern voneinander, als der Cholera vibrio blaue, das *Bact. coli* rote Kolonien bildet. Vielfache Versuche haben ergeben, daß die Farbdifferenzierung um so leichter eintritt, je näher die Reaktion des Nährbodens von vornherein dem Neutralpunkte liegt. Andererseits darf der guten Reaktionsfähigkeit des Nährbodens nicht die rasche Wachstumsmöglichkeit der Cholera geopfert werden, soweit sie von der Reaktion abhängig ist.

Kitasato²⁾ hat nachgewiesen, daß bei Zusatz von 0,052 Proz. Salzsäure zu neutraler Nährgelatine die Cholera vibrien nur langsam und spärlich wachsen, 0,066—0,08 Proz. Zusatz von H-Cl hindert die Entwicklung vollständig. Von Milchsäure ist ein Zusatz von 0,2 bis 0,225 Proz. zur Nährgelatine erforderlich, um die Entwicklung der Cholera zu hemmen. Schon Kitasato hat (l. c.) auch auf die Wechselbeziehungen hingewiesen, welche zwischen dem Säuregrad des Nährbodens und der Temperatur bestehen. Er sagt nämlich: „Das Wachstum

1) Diese Zeitschrift. Abt. I. Bd. XXXIV. No. 6. p. 585—591.

2) Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholera bacillen zu säure- oder alkalihaltigen Nährböden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1888. p. 404.)

der Cholerabacillen in den sauren Nährböden ist sehr abhängig von der Temperatur. Wenn ich zu einem neutralen Agarnährboden eine bestimmte Menge einer Säure hinzusetzte, Cholerabacillen hineinimpfte und die Kultur dann bei Zimmertemperatur von 20—22° C stehen ließ, so wuchsen die Cholerabacillen nicht, wenn ich aber eine Cholerakultur, welche eine ganz gleiche Menge derselben Säure enthielt, in den Brütöfen von 34—36° stellte, so fand ein Wachstum statt. Wenn ich also z. B. einem neutralen Agarnährboden 0,225 Proz. Milchsäure hinzusetzte, Cholerabacillen hineinimpfte und einige solcher Kulturen bei Zimmertemperatur von 20—22° stehen ließ und andere im Brütöfen von 36° C aufstellte, so blieben diejenigen Kulturen, welche bei Zimmertemperatur standen, ganz steril, selbst nach einer Woche, während diejenigen, welche im Brütöfen aufgestellt waren, nach 2—3 Tagen wuchsen.“ Ein Jahr später hat Henle¹⁾ darauf aufmerksam gemacht, daß die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln *ceteris paribus* um so größer ist, je höher die Temperatur ist.

Diese Angaben wurden von verschiedenen Seiten bestätigt. Behring²⁾ macht, gestützt auf Untersuchungen von Hünemann, darauf aufmerksam, daß bei Sublimatzusatz zu 5 ccm Nährbouillon und Impfung mit 1 Oese Cholera material (von 1-tägiger Agarkultur) Sublimat im Verhältnis von 1 : 100 000 genügt, um die Vibriolen bei 36° in 1 Stunde abzutöten, während bei 3° Sublimat im Verhältnis von 1 : 50 000 hinzugefügt werden muß, um die Cholera bouillon in 1 Stunde zu sterilisieren. Ferner erfolgt die Abtötung der Cholera innerhalb 5 Minuten bei 36° durch 1 : 50 000, bei 3° erst durch 1 : 25 000 Sublimat³⁾. Die Wirkung des Sublimates war also in den Behring'schen Versuchen bei 36° doppelt so stark wie bei 3°.

Es könnte nun scheinen, daß sich die Untersuchungsergebnisse von Kitasato einerseits und von Henle und Behring auf der anderen Seite widersprechen. Bei Bakterien, die bei Brütwärme am besten wachsen, ist der Einfluß entwicklungshemmender Agentien um so geringer, je mehr die Temperatur von niederen Graden emporsteigt und sich dem Optimum nähert, während die Wirkung der Desinfizientien um so größer wird, je höher die Temperatur ist.

Dieser scheinbare Widerspruch ist natürlich Behring nicht entgangen. Er hat das verschiedenartige Verhalten der Noxen in den beiden Versuchsreihen folgendermaßen erklärt:

„Wir dürfen uns vorstellen, daß für die Abtötung bei kürzerer Wirkungsdauer die „chemische Aktivität“ des Desinficiens, wie Henle sich ausdrückt, vornehmlich in Frage kommt, und diese ist um so größer, je höher die Temperatur. Lassen wir dagegen solche Mengen des Desinficiens einwirken, die auch bei Brüttemperatur und längerer Wirkungsdauer die Bakterien noch nicht abzutöten vermögen, so werden die entwicklungshemmenden Eigenschaften eines Mittels um so mehr in Erscheinung treten, je ungünstiger im übrigen die Verhältnisse für die Vermehrung der Bakterien sind, und das ist der Fall bei den meisten

1) Henle, A., Ueber Kreolin und seine wirksamen Bestandteile. (Arch. f. Hyg. Bd. IX. 1889. p. 188.)

2) Behring, Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. IX. 1890. p. 404.)

3) Behring hat bei der Erläuterung seiner Tabelle irrtümlicherweise als wirksamen Sublimatzusatz bei den genannten Temperaturen 1 : 100 000 und 1 : 25 000 in Beziehung zueinander gesetzt.

pathogenen Bakterien, wenn wir sie bei niedrigeren Temperaturen züchten. Mit anderen Worten: Bei dem Temperaturoptimum, welches bekanntlich für verschiedene Bakterien verschieden ist, werden wachstumsschädigende Faktoren leichter überwunden.“

Diese Schlußfolgerung Behrings stellt nichts anderes dar, als eine durch das Experiment gefundene Tatsache. Das scheinbar Unerklärliche liegt aber nicht darin, daß Bakterien bei ihrem Temperaturoptimum eine äußere Schädigung leichter ertragen, sondern daß es bei der Desinfektionswirkung nicht ebenso ist. Dann müßte aber die Beziehung zwischen Desinfektionswert und Temperatur umgekehrt sein, als sie durch die experimentell gefundenen Tatsachen statuiert wird.

Die Erklärung von der „chemischen Aktivität“ ist nicht befriedigend.

Eine theoretische Erklärung scheint aber trotzdem nicht schwierig zu sein. Sie liegt in den Sätzen: Je höher die Temperatur, desto wirksamer ist ein Desinficiens. Je näher die höhere Temperatur an das Wärmeoptimum des Cholera vibrio reicht, desto kräftiger und widerstandsfähiger sind die Bakterien. Bei 37° werden im Verhältnis zu niedrigeren Temperaturen sowohl das Desinficiens wirksamer als auch das angegriffene Bakterium widerstandsfähiger. Ist das Desinficiens in sehr geringen Mengen zugesetzt, dann überwiegt der Einfluß der Bruttemperatur zu Gunsten der Bakterien, bei größerem Zusatz von Desinfektionsmitteln wird die Desinfektionswirkung so sehr verstärkt (Sublimat 1:100 000 in Bezug auf Cholera vibriolen auf das Doppelte!), daß die gleichzeitige Erhöhung der Widerstandsfähigkeit der Vibriolen demgegenüber wenig in Betracht kommt. Ja, es muß sogar möglich sein, die Wirksamkeit der Temperatur auf Grund von ad hoc angestellten Versuchen rechnerisch in eine mathematische Formel zu bringen. Da aber bei Zusatz geringer Mengen Chemikalien, welche die Bakterien schädigen, zum Nährboden die schädigende Wirkung um so geringer ist, je mehr „Hilfen“ wir der Kultur durch Gewährung sonstiger günstiger Bedingungen geben, vor allem durch Züchtung beim Temperaturoptimum, so muß umgekehrt jede Schädlichkeit eine um so größere Wirkung auf das Wachstum haben, wenn wir sie bei ungünstigen sonstigen Verhältnissen einwirken lassen.

Studien über den geeignetsten Alkaleszenzgrad eines Nährbodens müssen demnach bei einer die Reaktion verstärkenden Temperatur angestellt werden. Die Temperatur darf nur dem Wachstum des betreffenden Bakteriums nicht absolut ungünstig sein. Bei Cholera sind 22° die für diesen Zweck geeignete Wärme.

Die Züchtung der Cholera vibriolen bei 22° ermöglicht uns, ein Zuviel oder Zuwenig der Alkaleszenz gewissermaßen in potenziertem Wirkung zu erkennen.

Schon die Grenzbestimmungen von Kitasato¹⁾ und Behring²⁾ über die abtötende Wirkung von Alkali- und Säurezusätzen zum Nährboden zeigen, daß das Reaktionsoptimum nach der alkalischen Seite hin liegt. Kitasato spricht zwar in Prozenten von den Zusätzen, hat aber keine Erklärung hinsichtlich Normalalkali und Normalensäure gegeben. Behring gibt an, daß derjenige Zusatz von Natrium carbonicum zum Liter Bouillon, welcher zu seiner Neutralisierung 60 ccm Normalensäure braucht, Milzbrandbacillen nach 2 Stunden abtötet. Für Cholera-

1) l. c.

2) l. c. p. 414—415.

bakterien ist noch mehr als 60 ccm Normallösung von Natron carbonicum zur Abtötung erforderlich.

Dagegen töten schon 30 ccm Normalsäure im Liter die Cholera-vibrionen in wenigen Stunden. Danach dürfte das Reaktionsoptimum des Choleranährbodens nach der alkalischen Seite hin liegen.

Der Hinweis von Behring, daß Ammoniak und sein kohlen-saures Salz in viel größerer Menge zum Nährboden zugesetzt werden müssen (selbstverständlich berechnet auf Normalsäure), um denselben Effekt zu erzielen, ist außerordentlich wichtig. Läßt er doch den bedeutungsvollen Schluß zu, daß es nicht allein auf den Alkaleszenzgrad ankommt, sondern daß — auch für die Herstellung eines Nährbodens von günstiger Alkaleszenz — das verwendete Alkali von Belang ist.

Eine Einigkeit ist dadurch zu erzielen, daß überall dem Vorschlage entsprochen wird, nur Natrium carbonicum zur Alkalisierung zu benutzen.

Ueber den günstigsten Grad der Alkaleszenz eines Nährbodens liegt eine Reihe von Untersuchungen vor.

Solange man noch keine Möglichkeit hatte, durch Agglutinations- und Immunitätsprüfung Vibrionen als Cholera-bakterien zu identifizieren, hat man in viel höherem Grade als heute der Gelatinekultur bei der Stellung der Choleradiagnose einen Wert zugemessen. Die Nährgelatine galt eine Zeitlang als der eigentliche Choleranährboden. So kommt es denn, daß die Versuche, das Alkaleszenzoptimum für Cholera festzustellen, an Gelatine gemacht wurden. Die Umstände haben das Experiment also so glücklich geleitet, wie man es heute auch nicht zweckmäßiger einrichten könnte.

E. Fraenkel¹⁾ hat 1892 von der Choleragelatine verlangt, daß sie deutlich alkalisch reagieren soll.

Dahmen²⁾ weist darauf hin, „daß ein schwach alkalischer Nährboden zu dieser Untersuchung nicht nur nicht genügt, sondern absolut ungeeignet ist“. Er hat Nährgelatine mit Soda in verschiedenen Zusatzmengen alkalisiert und die Kolonieengröße der bei 22° gehaltenen Kultur als Maßstab für den passendsten Alkaleszenzgrad genommen. Dabei stellte sich heraus, daß bei Zusatz von 1-proz. kristallisierter Soda die Kolonien am größten waren. Selbstverständlich verstehen sich die Zusätze zum neutralen Nährboden.

Die Vorschrift Flügges³⁾ ist komplizierter. Er setzt „zu 1 l Nährgelatine 55 ccm einer Sodalösung, welche 10,6 Proz. durch Glühen von Natriumbikarbonat hergestellter Soda enthält.“

Gruber⁴⁾ alkalisiert nur bis zum Eintritt der Rosolsäurereaktion

Nun gibt aber Dahmen selbst an, daß der Unterschied der Kolonieengröße bei 0,5—1,5 Proz. Sodazusatz nicht besonders groß ist. Es ist nach dem oben Gesagten selbstverständlich, daß diese kleine Differenz noch weniger erheblich sein muß, wenn wir die Alkaleszenzgrade etwa Agarversuchen bei 37° zu Grunde legen würden.

1) Fraenkel, E., Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 881.

2) Dahmen, Die Nährgelatine als Ursache des negativen Befundes bei Untersuchung der Faeces auf Cholera-bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892. p. 620.)

3) Flügge, Die Verbreitungsweise und Verhütung der Cholera. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1903. p. 195.)

4) Gruber, Cholera-studien. II. Ueber die bakteriologische Diagnostik der Cholera und des Cholera-vibri. (Arch. f. Hyg. Bd. XX. 1894. p. 123.)

Bei der Bereitung unseres Reaktionsnährbodens¹⁾ für choleradiagnostische Zwecke mußten wir aber so nahe wie möglich an den Neutralpunkt herangehen, um einerseits dem *B. coli* die Bildung roter Kolonien zu erleichtern; andererseits mußten wir der Cholera möglichst günstige Wachstumsbedingungen verschaffen.

Es würde demnach a priori der Zusatz von 0,5 g kristallisierter Soda zu 100 ccm neutralen Nährbodens zu empfehlen sein. Es ist uns aber zweckmäßig erschienen, noch unter diesen Grad der Alkaleszenz im Interesse der Reaktionsfähigkeit zu gehen. Ein Zusatz von 0,09 Proz. kristallisierter Soda zum neutralen Nährboden schien uns aus diesen theoretischen Erwägungen heraus am geeignetsten, um allen Anforderungen in gleichmäßiger Weise zu entsprechen, welche hinsichtlich leichter Reaktionsfähigkeit und guter Wachstumsbedingung für den Cholera vibrio an einen Nährboden zu stellen sind.

Nun aber haben einige Versuche bei der praktischen Herstellung des Agars gelehrt, daß dieses Quantum Alkalizusatz dann erreicht ist, wenn rotes Lackmuspapier deutlich gebläut und blaues Lackmuspapier noch etwas blauer gefärbt wird.

In dieser Form haben wir früher schon die Vorschrift für den Alkalisierungsgrad gegeben. Erneute Versuche haben uns wiederholt von der Zweckmäßigkeit derselben Rechnung abgelegt.

Das ist die Begründung des von uns gewählten Alkalisierungsgrades.

Eine weitere Frage ist nun die, welche Vorteile der Spezialagar bei der Auffindung von Cholera kolonien gegenüber den anderen üblichen festen Nährböden bietet.

Die Gelatinekultur hat heute nicht mehr die Bedeutung für die Diagnosestellung der Cholera kolonien, welche ihr früher beigemessen wurde. Auf eine differenzialdiagnostische Beurteilung von Kolonien der Cholera und anderer Vibrionen wird sich heutzutage wohl kaum mehr ein Bakteriologe einlassen. Es kommt nun hinzu, daß wir den Nährboden nicht bloß zur Ermittlung Cholera kranker benutzen, sondern daß die Feststellung von Cholera trägern als eine der wichtigsten öffentlich-hygienischen Aufgaben zu betrachten ist. Muß man auch Kollé²⁾ zugeben, daß wir keine andere Darmkrankheit kennen, „bei welcher die stark lichtbrechenden Vibrionenkolonien in erheblicher Menge direkt durch Aussaat von Darminhalt durch das Gelatineplattenverfahren gewonnen werden können, als eben nur die Cholera“, so werden die Bakteriologen in Zukunft doch voraussichtlich in sehr erheblicher Zahl nicht die Faeces von Kranken, sondern von Gesunden auf die etwaige Anwesenheit von Cholera vibrien zu prüfen haben.

Was sich sonst gegen die einseitige Verwendung der Gelatineplatte zur Cholera diagnose sagen läßt, hat Kollé (l. c. p. 384—386) in erschöpfender Weise ausgeführt.

Hinsichtlich der Verwendbarkeit der Agarplatte folgen wir gleichfalls den Ausführungen dieses hervorragenden Cholera kenners (Kollé, l. c. p. 387): „Auf der Agaroberfläche lassen sich die Cholera kolonien von den Kolonien der meisten in menschlichen Faeces vorkommenden Bakterien durch ihre eigentümliche Transparenz bei auffallendem Lichte unterscheiden. Zwischen den Kolonien der echten Cholera vibrien

1) Hirschbruch u. Schwer, Die Cholera diagnose mit Hilfe eines Spezialagars. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903. p. 587.)

2) l. c. p. 383—384.

und anderen choleraähnlichen Vibrionen treten auf der Agarplatte diagnostisch verwertbare Unterschiede nicht zu Tage.“

Demgegenüber können wir folgende spezielle Eigenschaften des Choleraspzialagars hervorheben:

1) Alle Vorzüge des gewöhnlichen Agars gegenüber der Cholera besitzt auch der Spezialagar (schnelles Wachstum; Größe, Form und Struktur der Kolonien). Durch den Kristallviolettzusatz wird die Größenbildung der Kolonien nicht beeinträchtigt. Auch die Kolonienzahl wird nach vergleichenden Versuchen durch das Kristallviolett nicht verringert.

2) Der Farbenunterschied zwischen Cholera- und Coli-Kolonien tritt ganz eklatant in die Erscheinung und kommt als sehr wesentliches Moment zu den Eigenschaften, welche die Cholerakolonie auf gewöhnlichem Agar besitzt, hinzu.

3) Der Kristallviolettzusatz läßt eine Anzahl häufig im Darm vorkommender Bakterien überhaupt nicht, andere nicht innerhalb der untersuchungsgerechten Fristen (10–20 Stunden für Cholera) zur Entwicklung kommen. Das Bild der Platte wird dadurch übersichtlicher^{1) 2)}.

4) Die Nähe von Coli-Kolonien erschwert nicht die leichte Erkennbarkeit einer Cholerakolonie, sondern läßt sie als blauen transparenten Knopf auf dem durch Säurebildung des *B. coli* und Diffusion der Säure in weiterem Umkreise rot gefärbten Nährboden nur um so deutlicher hervortreten. Selbst ineinander gewachsene Kolonien von *B. coli* und Cholera sind als Mischkolonien in ihren beiden Komponenten sofort zu erkennen. Wir halten deshalb gerade dort, wo wenig Cholerabakterien in den Faeces vermutet werden, also bei Untersuchung etwaiger Infektionsträger, ohne vorausgegangene Peptonanreicherung den Nährboden für besonders geeignet. Aber auch dort, wo man bei sicher an Cholera Erkrankten aus den Faeces den Cholerastamm züchten oder nach vorausgeschickter Peptonanreicherung zur Diagnose kommen will, erleichtert uns der Nährboden die Arbeit.

5) Die Erkennung der Cholerakolonien ist bei künstlichem Lichte ebenso leicht wie am Tage.

6) Die Herstellung des Agars erfordert nicht viel mehr Zeit als die Bereitung gewöhnlichen Bouillonagars. In etwa 5 Stunden ist jedes Quantum des Nährbodens herstellbar.

7) Da die Lackmuslösung nach Kubel-Tiemann bei unzuweckmäßiger Aufbewahrung mitunter verdirbt, benutzen wir jetzt an Stelle derselben den Farbstoff des Lackmus, das Azolithmin. Von diesem entsprechen 3 g im färberischen Verhalten genau 1 l Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung. Wir brauchen also 0,4 g zum Liter Choleraagar. Es ist zweckmäßig, das erforderliche Quantum Azolithmin in einem sterilen Reagierglas in wenigen Kubikcentimetern Leitungswasser durch mehrmaliges Aufkochen unmittelbar vor dem Zusatz zum übrigen fertigen Agar aufzulösen und so gleichzeitig zu sterilisieren; das Azolithmin zersetzt sich bei dieser Manipulation nicht.

Nun könnte uns vielleicht folgendes eingewendet werden: Den Choleraagar kann man sich doch nicht stets vorrätig halten. Wenn dann unvermutet die Dejektionen eines Kranken zur Untersuchung auf Cholera-

1) v. Drigalski u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 289.)

2) Hirschbruch u. Schwer, Prüfung des Typhusnährbodens nach v. Drigalski und H. Conradi etc. (Hyg. Rundsch. 1903. No. 17.)

vibrien ins Laboratorium gebracht werden, dann sind wir ja doch genötigt, auf den gewöhnlichen Bouillonagar zurückzugreifen.

Darauf können wir erwidern, daß jedes bakteriologische Laboratorium leicht in der Lage ist, in kürzester Frist sich jederzeit Choleraagar herzustellen.

Wir haben uns 100 ccm des Nährbodens in folgender Weise bereitet:

12—13 Röhrchen fertigen Bouillonagars ($1\frac{1}{2}$ Proz. Agar, auch diese geringere Konzentration eignet sich für den Nährboden) werden im Wasserbade verflüssigt. $1\frac{1}{2}$ g Milchzucker werden in ein steriles 100 ccm-Kölbchen geschüttet und der flüssige Agar darauf gegossen, bis durch Vergleich mit einem zweiten gleichartigen Kölbchen, das 100 ccm Wasser enthält, nach Augenmaß 100 ccm im Kölbchen sind. Der Kolben wird dann ins Wasserbad gestellt, wo er $\frac{1}{4}$ Stunde im siedenden Wasser bleibt.

Inzwischen sind in einem anderen Wasserbade 100 ccm destilliertes Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde gekocht worden. In diesem lösen wir dann 0,1 g Kristallviolett auf. Der Milchzuckeragar wird mit einer schwachen mehrmals aufgekochten Sodalösung bis zu dem oben erwähnten Grade alkaliert, eine gekochte Lösung von 0,04 g Azolithmin in wenig Wasser und 1 ccm Kristallviolettlösung werden hinzugefügt. Das Ganze stellt man wieder in das auf 45° C gebrachte Wasserbad zur Abkühlung. Nach etwa 10 Minuten haben wir den Agar in sterile Petrische Schalen gegossen und ihn offen erstarren lassen. Wenn man diese vorgängige Abkühlung des Agars im Kölbchen vornimmt, erfolgt die Erstarrung und auch die Trocknung der Agaroberfläche in sehr kurzer Frist.

Wir haben zur Bereitung des Nährbodens aus gewöhnlichem Bouillonagar vom Anfang an bis zum Vorhandensein gebrauchsfertiger Platten nur 45 Minuten gebraucht. Diese kleine Verzögerung dürfte für die Stellung der Diagnose wohl niemals in Betracht kommen. Dabei ist noch zu erwägen, daß die zur Nährbodenbereitung erforderliche Zeit sehr wohl von einem anderen Mitgliede des Laboratoriums zur Anlegung von Anreicherungskulturen und zur Herstellung von gefärbten Präparaten und hängenden Tropfen benutzt werden kann. Aus dem Peptonwasser können nach wenigen Stunden weitere Ausstriche angelegt werden. Wenn man jedesmal 2 Platten anlegt, so reichen die 100 ccm Nährboden schon zur Untersuchung von 2—3 Fällen (für jeden Fall 4 Platten; 2 direkt und 2 nach der Anreicherung). Bei der Benutzung unserer gläsernen geknüpften Nadel (l. c. p. 587) wird auch Agar von geringer Konzentration nie eingerissen.

Wir hoffen, daß von anderer Seite unser Agar bald nachgeprüft werden möge.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Joseph-Universität zu Kolozsvár.
Prof. Dr. J. v. Lóte.]

Von Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten.

In meinen Vorträgen, gehalten in den medizinischen Fachsitzungen der medicin.-naturwissenschaftlichen Sektion des „Erdélyi Múzeum-Egylet“ (Siebenbürgischer Museum-Verein) am 30. März und am 27. April 1901 machte ich in einem Aufsätze „Ueber die bakterizide Wirkung der Seifen“ (Arch. f. Hyg. Bd. XLIV) Mitteilungen über die antiseptischen Eigenschaften einer mit Terpeneol, Heliotropin, Vanillin und Cumarin parfümierten Resorcinseife. Ich kam damals nach meinen Untersuchungen zu folgenden Schlüssen: Die Seife ist ein gutes Desinfektionsmittel, die desinfizierende Wirkung ist unabhängig von dem in der Seife enthaltenen Resorcin und hängt nur von den odorierenden Bestandteilen ab; der Seifensubstanz selbst kommt keine desinfizierende Wirkung zu. Der Verfertiger der Seife gab nach diesen Untersuchungen kein Resorcin mehr der Seifenmasse zu und die Seife kommt seitdem unter dem Namen „Szent-László“¹⁾, desinfizierende Toiletteseife, in den Handel.

Nach meiner Arbeit erschienen die Mitteilungen von H. Marx, O. Heller und J. Filep, welche sich mit dieser Frage beschäftigten.

H. Marx bestätigt in seiner vorläufigen Mitteilung „Ueber die bakterizide Wirkung einiger Riechstoffe“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII) meine Ergebnisse, und findet das Terpeneol besonders wirkungsvoll in Verbindung mit schäumender (flüssiger) Kaliseife, indem eine 10-proz. Kaliseifenlösung mit einem Terpeneolgehalt von 1 Proz. bei 37° Staphylokokken in 12 Minuten vernichtet, während Kaliseife bei der gleichen Einwirkungszeit getrennt ganz wirkungslos bleibt.

O. Heller berichtet in einer Mitteilung „Ueber die Bedeutung von Seifenzusatz zu Desinfektionsmitteln“ (Arch. f. Hyg. Bd. XLVII) über die Desinfektionswirkung des Sapokalinus (Pharm. Germ.) und findet gegen Typhusbacillen nicht einmal eine antiseptische Wirkung bei einem Verhältnis von 1 : 250. Dennoch kommt Heller zu folgenden Schlüssen:

1) „Sapokalinus (Pharm. Germ.) besitzt nur eine geringe desinfizierende Kraft.“ Welche Untersuchungen beweisen das? Denn aus Tabelle I (p. 230) kann man diesen Schluß nicht ziehen.

2) „Mit Acid. carb. criss. pur. bildet er (Sapokalinus) bis zu einem Verhältnis von 1 : 3 schon bei gewöhnlicher Temperatur ohne jeden weiteren Zusatz eine Lösung.“

3) Die Desinfektionskraft des Acid. carb. criss. pur. wird durch den Zusatz dieses Sapokalinus, welcher kein freies Alkali besitzt, gesteigert.“

„Die Steigerung ist am größten beim Verhältnis von 1 : 1.“ (Im alltäglichen Leben wird niemand die Desinfektionskraft des Acid. carb. criss. pur. auf solche Weise steigern.)

1) Es wird so ausgesprochen, wie nach franz. Orthographie: Sainte Lâceleau.

Ich muß noch Hellers folgende Worte beantworten: „Es ist nicht leicht, sich ein Bild zu machen von der Wirksamkeit der Seife Jedenfalls bleibt zu betonen, daß die desinfizierende Kraft einer Seife, ganz abgesehen von anderweitigen Zusätzen, schwankt je nach dem einzelnen Präparat und sich ändert unter all den Einflüssen und Bedingungen, die Serafini anführt (Temperatur, Beeinflussung von Kohlensäure, Lösungsmittel, Wassergehalt, Zusatz an Fremdstoffen, Gegenwart von Harzseifen). Eine gewöhnliche Seife besitzt jedenfalls einen entwicklungshemmenden, in höherer Konzentration völlig desinfizierenden Einfluß.“

Bevor ich aber auf Hellers Folgerungen übergehe, soll noch kurz über die Untersuchungen von Filep berichtet werden.

Filep untersuchte im hygienischen Institute zu Kolozsvár die bakterizide Wirkung der „Szent-László“-Seife, bestätigte meine früheren Ergebnisse, arbeitete aber nicht mit 1-prom. Seifenlösung wie ich, sondern, den praktischen Verhältnissen angepaßt, mit konzentrierteren Lösungen, da — wie er sagt — „sich niemand mit 1-prom. Seifenlösung zu waschen pflegt“. Filep hatte auch die Konzentration derjenigen Seifenlösung festgestellt, welche sich beim Waschen bildet, und fand dieselbe im Durchschnitt von 12,3 Proz.

Nunmehr gehe ich auf meine Untersuchungen über, welche eine Fortsetzung meiner oben erwähnten Mitteilung bilden und den Zweck haben, auf Grund der Untersuchung mehrerer Seifen festzustellen, ob jede Seife bakterizid wirkt, und wenn ja, woher diese Wirkung stammt?

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: Von jeder Seife wurde zur Bouillon so viel gegeben, daß der Seifengehalt derselben 1 Proz. ausmachte. Sodann wurde die Bouillon mit Anthraxbacillen geimpft. Nach einem Verweilen von 24 Stunden in einem Thermostaten (37° C) wurde aus dieser Mischung eine Oese (0,5 cm Durchmesser) auf Agar-Agar übertragen. Wenn auf diesem Agar innerhalb der entsprechenden Zeit sich eine Anthraxkultur entwickelt, so kann man den Schluß ziehen, daß die Seife nicht einmal eine entwicklungshemmende (antiseptische) Wirkung hat. Bleibt aber die Entwicklung aus, so kann man daraus schließen, daß die Seife innerhalb 24 Stunden die Anthraxbacillen getötet oder derart geschwächt hat, daß dieselben auf künstlichem Nährboden nicht mehr aufgehen können. Bei diesem Verfahren wird auch vom Desinfektionsmittel ein wenig übertragen, wodurch die Entwicklung beeinflußt werden kann. Geht dennoch eine Kultur auf, so ist dies ein Beweis, daß die Seife gar keine antiseptische Wirkung hat. Zeigte sich aber eine Seife bei dieser Versuchsweise als entwicklungshemmend (antiseptisch), so wurde sie weiter geprüft, um ihre bakterizide Wirkung zu erforschen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurde auch jetzt so vorgegangen, wie bei den ersten Untersuchungen im Jahre 1901, nur mit dem Unterschiede, daß jetzt statt Deckgläschen Granatperlen in die Suspension gelegt wurden. Es wurde nämlich nach der Methode Gepperts aus Anthraxsporen eine Suspension hergestellt und die Granatperlen, Leinwandstückchen und Seidenfäden wurden in dieselbe gelegt, nach einigen Minuten herausgenommen und abgetrocknet. Die Testobjekte kamen dann in die Seifenlösungen (1 Prom. oder 10 Proz. in sterilem destillierten Wasser). Nach einer bestimmten Zeit wurden die Testobjekte der Lösung entnommen, in lauem, sterilem, destilliertem Wasser gut

ausgewaschen und in hochgefüllte Bouillonröhrchen gelegt. Als Kontrolle wurde mit seifenlosen Testobjekten auf gleiche Weise vorgegangen und dann alles in den Brutschrank gebracht.

Die Resultate der Untersuchungen dieser Seifen zeigen die folgenden Tabellen. Ich muß betonen, daß die Feststellung der bakteriziden Wirkung bei allen Seifenlösungen und auch bei der zur Kontrolle dienenden 1-prom. Sublimatlösung an solchen Anthraxsporen geschah, welche aus ein und derselben Kultur stammten, weshalb man die Resultate miteinander vergleichen kann. Die Sublimatlösung wurde nicht aus Pastillen, sondern aus dem Salze mit Leitungswasser (Härte 11—12 deutsche Grade) hergestellt und das Sublimat auch jetzt mit Schwefelammonium niedergeschlagen.

Im ganzen wurden 103 Seifensorten untersucht, wovon 67¹⁾ aus verschiedenen (englischen, französischen, deutschen, österreichischen und ungarischen) Fabriken, 36 aus der Heinrichschen Mineral- und Medizinalseifenfabrik zu Kolozsvár stammten. Unter den letztgenannten befinden sich 22 Sorten, welche im Handel nicht vorkommen und nur auf meine Bitte zu experimentellen Zwecken verfertigt wurden, wofür ich mich auch an dieser Stelle zu Dank verpflichtet fühle.

Tabelle I.

Im Handel vorkommende Seifen, welche gar keine antiseptische Wirkung haben.

Name der Seife	Fabrikant	Ort	Preis
Antiseptic Gold-Cream „Eucryl“ toil. soap.	Major & Co.	—	1 kr.
Formaldehydseife	Moldenhauer & Co.	Berlin	80 heller
Pármai ibolya-Seife	Szabó Béla	Miskolcz	80
Medizinische Kreolinseife	Will. Pearson	Hamburg	80 „
Feine Moschusseife	Kielhauser	Graz	70 „
Medizinische Karbolseife	M. Fanta	Prag	70 „
Nicotianaseife	C. Mentzel	Bremen	1 kr.
Savon de Benzoe	Dr. Fr. Lengyel	—	70 heller
Lilienmilchseife	G. Lohse	Berlin	1 kr.
Ueberfettete Menthol-Eukalyptol- seife	F. Mühlen	Köln a./Rh.	1,30 kr.
Dörings Seife mit der Eule	Döring & Co.	Frankfurt a./M.	60 heller
Savon Parf. „Musc“ aux fleurs	F. Prochaska	Praque	} à 20 heller
„ „ „Rose“ „ „	„	„	
„ „ „Muquet“ „ „	„	„	
„ „ „Fl. d. Ind.“ „ „	„	„	
Glycerin-Veilchenseife	„	„	50 heller
Savon „Violette“	H. Kielhauser	Graz	} à 80 heller
„ „Rose“	„	„	
„ „Muquet“	„	„	
Oeillet Gartennelke	„	„	80 heller
Glycerin-Veilchenseife	„	„	50
Speickseife	„	„	70 „
Alpenheuseife	„	„	1 kr.
Fliederseife	„	„	1 „
Tannoformseife	—	—	85 heller
Ueberfettete Mentholseife	Dr. C. Döpfer	Köln a./Rh.	1,30 kr.

Die in dieser Tabelle angeführten Seifen haben nicht einmal eine entwicklungshemmende Wirkung, obwohl viele derselben als vorzügliche antiseptische Seifen bezeichnet werden.

1) Diese Seifen wurden durch die Apotheke des Herrn Dr. Dyonisius Czetz zu Kolozsvár bezogen.

Tabelle II.

Im Handel vorkommende Seifen, welche antiseptische Wirkung zeigten (10-proz. Seifenlösungen.
+ = Kultur geht auf; - = Kultur geht nicht auf).

Name der Seife	Fabrikant	Ort	Preis	Zeit der Einwirkung	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	Kontroll
Premier Vinolia Soap	Blondeau & Co.	London	70 heller	2 Minuten	+	+	+	+
Flüssige Formalinseife	Th. Hahn & Co.	New York	1 kr.	5 "	+	+	+	+
Peruolseife	Aktiengesellsch. für Anilinfabrikation	Schwedt a./O. Berlin	90 heller	2 "	+	-	-	+
Fichtennadel-Toiletteseife	Berger	Troppau	70 "	5 "	+	+	+	+
Balsam. Olivenseife	Raymund	Berlin	70 "	2 "	+	+	+	+
Balsam. Erdnußölseife	Gebrüder Leder	"	50 "	5 "	+	+	-	+
Hyg. Balsaminenseife	A. J. Czerny	Wien	60 "	2 "	+	+	+	+
Mineralölseife	J. Felsner	"	70 "	5 "	+	+	+	+
Echte Salvator-Glycerinseife	J. Co. Dienes	Esseg	1 kr.	2 "	+	+	+	+
Anker-Thymolseife	Richter & Co.	Wien	80 heller	5 "	+	+	+	+
Aromatische Kräuterseife	Dr. Borchardt	Nürnberg Berlin	84 "	2 "	-	-	-	+
Birken-Balsamseife	Bergmann & Co.	Dresden	86 "	5 "	+	+	+	+
Savon Hygiénique Pate Dulcifiée	J. Feix	Prague	86 "	2 "	+	+	+	+
Savon Tréfle Nacarar	Prochaska	"	1,20 kr.	5 "	+	+	+	+
Savon Parfumé „Oponax“	"	"	20 heller	2 "	+	+	+	+
Savon Parfumé „Violette“	"	"	20 "	5 "	+	+	+	+
Diosmaseife mit Veilchenduft	"	"	70 "	2 "	+	+	+	+
Savon New Mown Hay	"	"	90 "	5 "	+	+	+	+
Sonnenblumenölseife	Kielhauser	Graz	70 "	2 "	+	+	-	+
Finest Perfumed Transparent	"	"	20 "	5 "	-	-	+	+
Valódi tojás-olaj-Seife	"	"	30 "	2 "	+	+	+	+
Kokusnußöl-Sodaseife	"	"	20 "	5 "	-	-	-	+
Savon d'Amandes	"	"	30 "	2 "	+	+	-	+
Pure Glycerine Soap	"	"	50 "	5 "	+	+	+	+
Lysol-Glycerinseife	Sargs Sohn	Wien	70 "	2 "	+	+	+	+
Jodkaliumseife	Réthy Béla	Békés-Csaba	1,10 kr.	5 "	+	+	+	+
Karbolseife	"	"	70 heller	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+

Name der Seife	Fabrikant	Ort	Preis	Zeit der Einwirkung	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	Kontrolle
					getrocknete Sporen			
Teerseife	Réthy Béla	Békés-Csaba	70 heller	2 Minuten	+	+	+	+
Glycerin-Teerseife	"	"	70 "	5 "	+	+	+	+
				2 "	+	+	—	+
				5 "	+	+	—	+
Sublimatseife	"	"	80 "	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Kreolinseife	"	"	80 "	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Thymolseife	"	"	1,20 kr.	2 "	+	+	—	+
				5 "	+	+	—	+
Tanninseife	"	"	80 heller	2 "	—	—	—	+
				5 "	—	—	—	+
Karbol-Glycerinseife	"	"	80 "	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Ichthyolseife	"	"	1,50 kr.	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Benzoeseife	"	"	80 heller	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Camphorseife	"	"	70 "	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	+	+
Boraxseife	"	"	70 "	2 "	+	+	—	+
				5 "	+	+	—	+
Schwefel-Milchseife	"	"	70 "	2 "	—	—	—	+
				5 "	—	—	—	+
Schwefelseife	"	"	70 "	2 "	—	—	—	+
				5 "	—	—	—	+
Salicylseife	"	"	80 "	2 "	+	+	+	+
				5 "	+	+	—	+

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß unter diesen 40 Seifensorten sich nur 5 als bakterizid zeigten, die übrigen 35 haben nur eine entwicklungshemmende Wirkung, und diese ist auch sehr gering, da ihre 10-proz. Lösungen nicht einmal in 5 Minuten die Anthraxsporen töten und daher im praktischen Leben zur Händedesinfektion nicht gebraucht werden können.

Diese Tabelle beweist auch, daß die aus ein und derselben Kultur stammenden Anthraxsporen unter denselben Bedingungen sich in verschiedener Zeit zu entwickeln beginnen, je nachdem sie an Granatperlen, Leinwandstücken oder Seidenfäden angetrocknet sind.

Diese Erfahrung machte ich auch bei meinen ersten Versuchen im Jahre 1901 und betonte schon damals, daß die Ursache dieser Tatsache darin zu suchen ist, daß man das Desinfektionsmittel aus dem Medium, in welchem die Sporen sich befinden, nicht vollständig beseitigen kann, deshalb bleibt immer eine minimale Menge, welche die Entwicklung beeinflußt. Bei allen Proben gingen zuerst die an Granatperlen angetrockneten Sporen auf, und nach 1—2 Tagen diejenigen, welche an Leinwandstücken, resp. Seidenfäden angetrocknet waren, zum Beweise dessen, daß das Desinfektionsmittel am besten von den Granatperlen, weniger gut aus den Leinwandstücken, und am schwersten aus den Seidenfäden zu entfernen ist. Man sollte bei solchen Untersuchungen die Seidenfäden ganz außer acht lassen und nur die Granatperlen benützen, wie dies einige Forscher auch tun.

Tabelle III.
Im Handel vorkommende J. Heinrichsches Seifen.
10-proz. Seifenlösungen.

Name der Seife	Preis	Zeit der Ein- wirkung	Auf			Kontrolle
			Granat	Leinwand	Seide	
			getrocknete Sporen			
„Szent László“-Desinfiz.- toiletteseife	70 Heller	2 Min.	—	—	—	+
Bacillolseife	70 „	5 „	—	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Boraxseife	70 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Kreolinseife	70 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Hygieiaseife	24 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Ichthyolseife	1,50 Kr.	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Kanzleiseife	30 Heller	5 „	—	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Teerseife	70 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Schwefelseife	70 „	5 „	—	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Mineralseife	20 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Neutralseife	40 „	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Anthrasolseife	1,50 Kr.	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Schwefel-Anthrasolseife	1,50 „	5 „	—	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
Salicyl-Schwefelteerseife	80 Heller	5 „	+	—	—	+
		2 „	+	—	—	+
		5 „	—	—	—	+

Diese Tabelle beweist, daß die „Szent-László“-Seife eine ausgesprochene bakterizide Wirkung hat, denn ihre 10-proz. Lösung vernichtet die Anthraxsporen innerhalb 2 Minuten. Weiter ist aus dieser Tabelle ersichtlich, daß die Teer-, Anthrasol-, Schwefel-Anthrasol- und Salicyl-Schwefelteerseife die Anthraxsporen ebenfalls töten, jedoch erst nach 5 Minuten.

In meiner ersten Mitteilung habe ich schon nachgewiesen, daß die „Szent-László“-Seife ein gutes Desinfektionsmittel ist, daß die Seifenmasse keine desinfizierende Wirkung hat, und daß sie nur nach Hinzugabe der odorierenden Mittel vollkommen desinfiziert.

In dieser Richtung stellte ich seit der Zeit mehrere Versuche an. Die Seifenmasse habe ich wiederholt untersucht, konnte aber weder eine antiseptische, noch eine desinfizierende Wirkung feststellen. Aus diesem Grunde kann ich Hellers Meinung, „daß die desinfizierende Kraft einer Seife, ganz abgesehen von anderweiten Zusätzen, schwankt je nach dem einzelnen Präparat“ und daß „eine gewöhnliche Seife jedenfalls einen entwicklungshemmenden, in höherer Konzentration völlig desinfizierenden Einfluß besitzt“ nicht acceptieren. Die Seifensubstanz besitzt gar keine desinfizierende Wirkung, ja sogar nach Zusatz von Desinfektionsmitteln

wirkt sie nicht desinfizierend, sondern kaum antiseptisch, wie meine Untersuchungen beweisen.

Um zu zeigen, daß die Seifenmasse erst nach Zusatz gewisser odorierender Stoffe bakterizid wirkt, verfertigte der Seifenfabrikant, Herr Joseph Heinrich, auf mein direktes Ansuchen Seifen, denen nur solche Stoffe beigelegt wurden, welche schon früher auf ihre antiseptische und desinfizierende Wirkung geprüft wurden.

Die desinfizierende Wirkung der so dargestellten Seifen ist in Tabelle IV und V zu ersehen, und zwar in Tabelle IV die Wirkung der 1-prom. und in Tabelle V die der 10-proz.

Tabelle IV.
1-prom. Seifenlösungen.

Namen der zur Seifenmasse gemischten Stoffe	Zeit der Einwirkung	Auf getrocknete Sporen			Kontrolle
		Auf Granat	Auf Leinwand	Auf Seide	
Baur	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
Karven	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
Moschus	5 "	+	+	+	+
	6 "	—	—	—	+
Safrol	5 "	+	+	+	+
	6 "	—	—	—	+
Thymian	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
Veilchen	21 "	+	+	+	+
	24 "	+	+	+	+
Lemongras	5 "	+	+	+	+
	6 "	—	—	—	+
Citronell	5 "	+	+	+	+
	6 "	—	—	—	+
Thymol	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
Palmarose	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
Eukalyptol	20 "	+	+	+	+
	21 "	—	—	—	+
Peruviene	20 "	+	+	+	+
	21 "	—	—	—	+
Bacillol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Acetate de benzyle	4 "	+	+	+	+
	5 "	—	—	—	+
Turanol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Jacinte	5 "	+	+	+	+
	6 "	—	—	—	+
Terpineol H. H.	4 "	+	+	+	+
	5 "	—	—	—	+
Rubidol	15 Min.	+	+	+	+
	30 "	—	—	—	+
Aubepine	15 "	+	+	+	+
	30 "	—	—	—	+
Eugenol	30 "	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
I. Mischung obiger Stoffe	30 Min.	+	+	+	+
	1 Std.	—	—	—	+
II. " " Stoffe	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+

Tabelle V.
10-proz. Seifenlösungen.

Namen der zur Seifen- masse gemischten Stoffe	Zeit der Ein- wirkung	Auf	Auf	Auf	Kontrolle
		Granat	Leinwand	Seide	
getrocknete Sporen					
Baur	1 Min.	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Karven	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Moschus	1 "	+	+	+	+
	2 "	+	+	+	+
Safrol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Thymian	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Veilchen	1 "	+	+	+	+
	2 "	+	+	+	+
Lemongras	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Citronell	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Thymol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Palmarose	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Eukalyptol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Peruviene	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Bacillol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Acetate de benzyle	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Turanol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Jacinte	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Terpineol H. H.	1 "	+	+	+	+
	2 "	+	+	+	+
Rubidol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Aubepine	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
Eugenol	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
I. Mischung obiger Stoffe	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+
II. " " Stoffe	1 "	+	+	+	+
	2 "	—	—	—	+

Diese Versuche beweisen, daß die odorierenden Stoffe zu den besten Desinfektionsmitteln gehören, und daß man diese Eigenschaft in der Seifenfabrikation sehr praktisch ausnützen kann, denn diejenigen Seifen, welche mit Zusatz dieser Stoffe bereitet werden, gehören auch zu den besten Desinfektionsmitteln.

Interessant und zugleich lehrreich erschien es, zu untersuchen, ob diese bakterizide Wirkung der Seifen durch Zusatz mehrerer odorierender Stoffe gesteigert werden kann. Die Resultate dieser Untersuchungen sind aus Tabelle VI zu ersehen.

Tabelle VI.
10-proz. Seifenlösungen.

Zeit der Einwirkung	I. Seife			II. Seife			III. Seife			Kontrolle
	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	
	getrocknete Sporen			getrocknete Sporen			getrocknete Sporen			
5 Minuten	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
10 "	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
15 "	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
30 "	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
1 Stunde	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
2 "	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
3 "	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Diese Versuche zeigen deutlich, daß man die bakterizide Wirkung der Seife steigern kann. Auf diese Untersuchungen gestützt, stellt der Fabrikant jetzt eine „Szent-László“-Seife her, deren bakterizide Wirkung als gleich anzunehmen ist mit dem besten Desinfektionsmittel, dem Sublimat, wie dies auch Tabelle VII zeigt, in welcher die Wirkung der 1-prom. Sublimatlösung und die der 10-proz. „Szent-László“-Seifenlösung nebeneinander zu ersehen ist.

Tabelle VII.

Zeit der Einwirkung	1-prom. Sublimatlösung mit Schwefelammonium niedergeschlagen			1-prom. Sublimatlösung mit sterilem Wasser ausgewaschen			10-proz. „Szent-László“-Seife		
	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide	auf Granat	auf Leinwand	auf Seide
	getrocknete Sporen			getrocknete Sporen			getrocknete Sporen		
1 Min.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die 10-proz. „Szent-László“-Seifenlösung dieselbe bakterizide Wirkung besitzt, wie die 1-prom. Sublimatlösung.

Diese Tatsache ist im praktischen Leben von großer Bedeutung, zumal das Sublimat ein starkes Gift, hingegen die Seife durchaus nicht giftig ist, was ich an mir selbst erprobt habe, da ich schon seit 2 Jahren die benannte Seife zum Waschen der Zähne benütze. Die Nichtgiftigkeit der Seife bezeugt ein interessanter Fall trefflich. Es geschah nämlich, daß ein 2-jähriges Kind zufällig ein ziemlich großes Stück dieser Seife ohne die geringsten Folgen herunterschluckte. Die genannte Seife wird in unserem Institute an Stelle der Sublimatlösung mit bestem Erfolge benützt.

Die Schlußfolgerungen, welche man sowohl aus den früheren, wie auch aus den jetzigen Versuchen ziehen kann, sind folgende:

Die „Szent-László“-Seife vereinigt alle guten Eigenschaften einer Toilettenseife in sich, sie ist im prakti-

schen Leben ein ausgezeichnetes Desinfektionsmittel. Sie besitzt einen angenehmen Geruch, greift die Haut nicht an, ebenso die Instrumente, Möbel und Kleidungsstücke. Sie verändert sich, äußeren Einflüssen ausgesetzt, nicht ist nicht giftig und bei alledem relativ billig¹⁾.

1) 100 g dieser Seife kosten 56 Heller, 100 g unwirksame Lilienmilchseife 111 Heller, von der Fliederseife 100 Heller.

Inhalt.

- Bertarelli, E.**, Ueber Beziehungen zwischen Virulenzmodifikationen des Wutvirus und Veränderungen der Negrischen Körperchen, p. 42.
- della Cella, Faustino Alfredo**, Ueber das Verhalten tuberkulöser Tiere gegen die subkutane Infektion mit Tuberkelbacillen, p. 12.
- Dschunkowsky, E. u. Kupsis, J.**, Ueber die Bereitung des trockenen Antirinderpestserums, p. 91.
- Dunbar u. Kister, J.**, Zur bakteriologischen Diagnose bei pestkranken Ratten, p. 127.
- Ghedini, Giovanni**, Ueber die toxische Wirkung einiger Organextrakte; anatomische und histologische Beobachtungen, p. 33.
- Ghon, Anton u. Sachs, Milan**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Forts.), p. 1.
- Hirschbruch u. Schwer**, Bemerkungen über feste Nährböden zum Zwecke der Choleradiagnose, p. 144.
- Jacqué, L.**, A propos de l'agent de la fermentation butyrique (unbeweglicher Buttersäurebacillus) décrit par Schattenschroff et Grassberger, p. 28.
- Konrádi, Daniel**, Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen, p. 151.
- Krause, Paul**, Ein Beitrag zur Kenntnis von der Dauer des Bestehens der Widalschen Reaktion nach überstandem Typhus, p. 121.
- Marx, E.**, Die Bestimmung kleinster Mengen Diphtherieantitoxins, p. 141.
- Pettersson, Alfred**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität, p. 71.
- Prettner, M.**, Ueber Serumgewinnung gegen Schweineseuche und Schweinepest, p. 94.
- Spangaro, Saverio**, Ueber die bakterientötende Kraft des reinen Blutes — des plasmareinen Blutes — des Plasmas und des Serums normaler und immunisierter Tauben gegen den Milzbrandbacillus, p. 83.
- Tiberti, N.**, Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids, p. 62.
- Turró, E.**, Beiträge zum Studium der natürlichen Immunität, p. 103.
- Weigert, Richard**, Ueber das Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden, p. 112.
- Weiss, Hugo**, Zur Kenntnis der Darmflora, p. 13.
- Zschokke, F.**, Die Darmcestoden der amerikanischen Beuteltiere, p. 51.

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 Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Nachdruck verboten.

Vergleichendes Studium einiger Stämme des *B. dysentericum*.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rom.]

Von Dr. **Dante De Blasi**, I. Assistenten.

Als hauptsächlichste, wenn nicht alleinige Ursache der Dysenterie wird jetzt von allen Gelehrten ein besonderes Bakterium angesehen, das im allgemeinen sich genau vom gewöhnlichen *Bact. coli* und dem Typhusbacillus unterscheidet, zu deren Gruppe es durch einige fundamentale Eigenschaften gehört.

Dieser Mikroorganismus ist bei verschiedenen Epidemien in den verschiedenen Teilen der alten und neuen Welt und auch in einigen wenigen sporadischen Fällen bei Erwachsenen und bei Kindern isoliert worden. Aber die Eigenschaften, die die Autoren ihnen zusprechen, sind nicht bei allen gleich. Einige, die sich auf die morphologischen und biologischen Eigenschaften der verschiedenen Stämme stützen, trennen sie scharf voneinander. Sie halten nur einen für das wahre *Bact. dysentericum* und behaupten, daß die anderen, die nicht vollkommen identisch mit ihm sind, gar keine Beziehung zu der Aetiologie der Krankheit haben.

Um die Wichtigkeit derartiger Unterschiede bei der Identifizierung der verschiedenen Dysenteriebacillen genau feststellen zu können, habe ich einige Stämme vergleichend untersucht, die in der Sammlung der Mikroorganismen unseres Instituts enthalten sind:

1) Das von Celli in Aegypten 1895 isolierte Bakterium, das in der Sammlung durch verschiedene Züchtungen in den gewöhnlichen Nährböden abwechselnd mit häufiger Passage durch Tierkörper erhalten ist.

2) Das von Shiga in Japan 1897 isolierte Bakterium. (Von Shiga selbst übersandt.)

3) Das von Flexner 1899 auf den Philippinen isolierte Bakterium. (Von Flexner selbst übersandt.)

4) Das von demselben Flexner in New Haven isolierte Bakterium. (Idem.)

5) Das von Kruse 1900 beschriebene Bakterium. (Von Professor Löwy in Straßburg übersandt.)

Vor allen Dingen will ich die hauptsächlichsten morphologischen Eigenschaften in einer Tabelle (p. 162) anführen:

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß mikroskopisch keine besonderen Unterschiede zwischen den 5 Mikroorganismen existieren. Die Bakterien Shiga und Kruse scheinen länger zu sein als die Cellis, aber ihrerseits wieder kürzer als die beiden Exemplare Flexners.

Dieser kleine Unterschied in der Größe ist bereits von Celli bei den *Bac. Celli* und Shiga (1) beobachtet und beschrieben worden. Er zeigte, daß sein Stamm, auf Kartoffel gepflanzt, sich in größeren Stäbchen als gewöhnlich vervielfältigt. Andererseits kommen bei dem *B. Shiga*, wenn er auf Agar nach einer Reihe von Bouillonpassagen verpflanzt wird, größere Formen vor. Wenn man außerdem in Betracht zieht, daß andere Bakterien, wie z. B. *B. typhi*, verschiedener Größe,

B. Celli	B. Shiga	B. Flexner Manila	B. Flexner New Haven	B. Kruse
Kurze Stäbchen, an den Enden abgerundet, meist isoliert, ohne Geißeln, unbeweglich, aber mit lebhafter Molekularbewegung. Färbt sich mit den meisten Anilinfarben, nicht nach Gram.	Etwas längere Stäbchen als die von B. Celli mit abgerund. Enden, meist isoliert, ohne Geißeln, unbeweglich, mit lebhafter molekularer Bewegung, leicht mit den gewöhnlichen Färbungsmethoden färbbar. Färbt sich nicht nach Gram.	Weit längere Stäbchen als bei B. Shiga, sonst den beiden ersteren ähnlich.	Stäbchen, die dem Stamme Manila ähnlich sind.	Stäbchen, die so ziemlich gleich groß sind, wie die von B. Shiga und im übrigen den anderen ähnlich.

entsprechend dem Nährboden, sein können, kann man annehmen, daß die verschiedenen Stämme des *Bact. dysentericum* auch verschiedene Dimensionen, natürlich in gewissen Grenzen, annehmen können. Diese geringen Größenunterschiede können aber nicht als diagnostisches Kriterium angesehen werden.

Die eigene Beweglichkeit des *Bact. dysent.* ist viel umstritten worden; dies ist ein Beweis dafür, wie schwer es manchmal ist, festzustellen, ob eine bestimmte Bakterienart beweglich ist oder nicht. Tatsächlich sprachen Celli und Shiga ihrem Bakterium einen gewissen Grad von Eigenbewegung zu, während Kruse behauptet, daß sein *Bac. dys.* eine lebhafte molekulare Bewegung, aber keine eigene besäße. Wenn man jede der genannten Arten, die von frischen Bacillen oder Agarkulturen herrühren, im hängenden Tropfen untersucht, kann man so lebhafte Bewegungen wahrnehmen, daß man im Zweifel über ein Urteil ist; in der Tat sieht man bei keinem Element eine wirkliche und eigentliche Beförderung. Dies wird durch die fast immer negativ ausfallenden Untersuchungen nach dem Vorhandensein von Geißeln bestätigt, falls diesen wirklich die Bedeutung zugesprochen wird, die Bewegungsorgane zu sein.

Anfänglich behauptete Shiga, daß Geißeln bei seinem *Bact.* vorhanden wären; diese Beobachtung stimmt mit der Vedders und Duvals (2) überein — er selbst zieht sie aber jetzt in Zweifel (3). Kürzlich wandte Dr. Cerrito seine Methode der Geißelfärbung bei dem *Bact. Celli*, *Shiga*, *Flexner* an, konnte das Vorhandensein dieser kleinsten Organe aber nicht feststellen. Auch der *Bac. Kruse*, mit derselben Methode gefärbt, erschien geißellos.

Die morphologischen Eigenschaften der 5 untersuchten Mikroorganismen bieten keine substantiellen Unterschiede.

II. Kulturelle Eigenschaften.

Ich wandte verschiedene Nährböden an, um eine größere Anzahl Vergleiche anstellen zu können.

Folgende Tabelle faßt die Entwicklung der einzelnen Bacillen auf den verschiedenen Nährböden zusammen:

Nährboden	B. Celli	B. Shiga	B. Flexner New Haven	B. Flexner Manila	B. Kruse
1) Gewöhnliche Bouillonkultur u. Bouillon mit Lackmus	Gleichmäß. getrübt, mit körnigem Bodensatz, bildet kein Häutchen auf der Oberfläche	Nicht so stark getrübt und minder reichlicher Bodensatz wie B. Celli	Trübung und Bodensatz wie B. Shiga	Stärker getrübt als B. Shiga, aber nicht so stark wie B. Celli	Wie B. Shiga
2) Bouillon nach Abba	Trübung ohne Entfärbung	Idem wie B. Celli	Idem wie B. Celli	Idem wie B. Celli	Idem wie B. Celli
3) Bouillon nach Bleisch	Wächst wie auf gewöhnlicher Bouillon. Indol fehlt	Idem wie B. Celli	Idem wie B. Celli	Wächst wie auf gewöhnlicher Bouillon, leichte Indolreaktion, die man nach 8-10 Tagen mit der Salkowskischen Methode wahrnehmen kann, die von der Extraktion durch Amylalkohol gefolgt ist	Idem wie B. Celli
4) Magermilch	Koaguliert nicht	Koaguliert nicht	Koaguliert nicht	Koaguliert nicht	Koaguliert nicht
5) Künstlich. Milchser. n. Bordas u. Joulin	Koaguliert nicht, leicht getrübt	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Etwas mehr als die anderen getrübt, koaguliert nicht	Wie B. Celli
6) Klopstockscher Nährboden	Koaguliert weder noch bildet er Gas, färbt langsam in Rot	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Wird rasch rot, bildet kein Gas und koaguliert nach 4 Tagen	Wie B. Celli
7) Gelatine-stich	Fadenförmig. Auflage, wenig verbreit., Rand wellenförm., schmutzigweiß, erst zart, dann üppiger; verflüssigt nicht	Fadenförmig. Auflage, wenn verbreitet und weniger üppig als B. Celli; verflüssigt nicht	Wie B. Shiga	Fadenförmig, Auflage üppiger als bei den anderen; verflüssigt nicht	Wie B. Shiga
8) Agarstrich	Feuchter, weißlicher, irisierender Belag, erst dünn, dann üppiger. Kondenswasser getrübt mit körnigem Bodensatz	Feuchter Belag, wenig oder gar nicht irisierend, sonst wie B. Celli. Kondenswasser weniger getrübt, mit geringem Bodensatz	Wie B. Shiga	Üppiger Belag wie B. Shiga, irisierend wie B. Celli	Wie B. Shiga
9) Kartoffel-stich	Gleichmäßiger feuchter Belag, anfangs dünn, dann üppiger	Gleichmäßiger feuchter Belag, zarter als der B. Cellis, mit Neigung, langsam üppiger zu werden als dieser	Wie B. Shiga	Üppigerer Belag als bei B. Shiga	Wie B. Shiga

Nährboden	B. Celli	B. Shiga	B. Flexner New Haven	B. Flexner Manila	B. Kruse
10) Agar mit H-CO ₂ Na (Omeliánski)	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Leichte Färbung nach 8 Tagen	Keine Reaktion
11) Gelatine- platte	Nach 48 Stunden kleine körnige Kolonien mit unregelmäßig rundlichem Rande, makroskopisch weißlich, bei kleiner Vergrößerung schmutziggelb. Nach 3 Tagen etwas größere Kolonien, am Rande eine zarte begrenzte Zone	Nach 48 Stunden kleine rundl., regelmäßige, körnige Kolonien, die makroskopisch wie schmutzige Wassertropfen aussehen. Nach 3 Tagen etwas größere Kolonien, mit am Rande zarter begrenzter Zone	Ähnliche Kolonien wie B. Shiga	2 verschiedene Arten von Kolonien, 1) ähnlich denen B. Shigas, 2) Kolonien mit unregelmäßig gelapptem Rande und kleinen Streifen an der Oberfläche	2 verschiedene Arten von Kolonien, die tieferen sind rund, braun, in der Mitte körnig, am Rande heller. Die oberflächlichen Kolonien sind hell, mit welligem Rande und gleichen denen des B. typhi
12) Agar- platte, nach Drigalski bereitet	Rundl. Kolonien, keine Farbenveränderung auf dem Nährboden.	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Wie B. Celli
13) Agar mit Neutralrot: Züchtung nach Roth- berger	Keine Farbenveränderung noch Gasbildung	Wie B. Celli	Keine Gasbildung, nach 4 Tagen ist der Nährboden rosa gefärbt	Keine Gasbildung, die Färbung findet rascher statt als bei New Haven	Wie B. Celli
14) Agar mit Methylen- blau (Züchtung wie oben)	Geringe Entfärbung	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Ausgesprochene Entfärbung	Wie B. Celli
15) Agar mit Vesuvium (Züchtung wie oben)	Geringe Entfärbung	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Ausgesprochene Entfärbung nach 4 Tagen	Wie B. Celli
16) Agar mit Saffranin (Züchtung wie oben)	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Verfärbung nach 5 Tagen	Keine Veränderung
17) Agar mit Chrysoidin (Züchtung wie oben)	Keine Veränderung	Verfärbung in Gelb nach 10 Tagen	Keine Veränderung	Verfärbung nach 10 Tagen	Keine Veränderung
18) Agar mit Fuchsin (Züchtung wie oben; B. coli verfärbt ihn langsam)	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Wie B. Celli

Nährboden	B. Celli	B. Shiga	B. Flexner New Haven	B. Flexner Manila	B. Kruse
10) Agar mit Nigge-rotlicher Mischung. B. coli und B. trübi verfarben nach 12. resp. 24 Stunden	Verfärbung in eine schwache Lilafärbung nach 72 Stunden	Wie B. Celli	Wie B. Celli	Wie B. Celli	

Die Beobachtungen No. 14—19 wurden mir von Dr. Scarzella zur Verfügung gestellt, der sich geraume Zeit mit den Veränderungen beschäftigt hat, die Keime auf den gefärbten Nährböden hervorrufen.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß tatsächlich zwischen den 5 Mikroorganismen kulturelle Unterschiede vorhanden sind, aber keiner von ihnen ist von großer Bedeutung. Der Stamm, der sich am meisten von den anderen unterscheidet, ist der Manila, was bereits von Martini und Lentz (5) und Drigalski (6) beobachtet worden ist.

Ich will hier besonders noch die Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen hervorheben:

I. B. Celli.

- a) In Bouillonkultur Trübung.
- b) Gelatinestich Auflage ziemlich üppig und verbreitet.
- c) Agarstrich üppiger Belag.
- d) Kartoffelstrich dünner, dann üppiger werdender Belag.
- e) Gelatineplatte unregelmäßig rundliche Kolonien.

II. B. Shiga.

- a) Bouillonkultur leichte Trübung.
- b) Bleische Bouillonkultur keine Indolreaktion.
- c) Klopstockscher Nährboden koaguliert nicht.
- d) Gelatinestich dünn, geringe Auflage.
- e) Agarstrich dünner Belag.
- f) Kartoffelstrich idem.
- g) Omelianskischer Nährboden keine Reaktion.
- h) Gelatineplatte rundliche regelmäßige Kolonien.
- i) Agar mit Neutralrot keine Veränderung.

III. B. Celli.

- a) Bouillonkultur Trübung.
- b) Bouillonkultur nach Bleisch keine Indolreaktion.
- c) Klopstockscher Nährboden koaguliert nicht.
- d) Omelianskischer Nährboden keine Reaktion.

B. Shiga (resp. Kruse).

- Leichtere Trübung.
- Dünne und geringe Auflage.
- Dünnere Belag als B. Celli.
- Dünnere Belag als B. Celli.
- Regelmäßige rundliche Kolonien.

B. Flexner (Manila).

- stärkere Trübung als die B. Shigas.
- Spuren von Indol.
- Koaguliert nach 4—5 Tagen.
- Ausgebreitetere Auflage als B. Shiga.
- Üppigerer Belag.
- Idem.
- Nach 8 Tagen leichte Rotfärbung.
- Einige regelmäßige, rundliche Kolonien, andere mit gelapptem Rande.
- Verfärbung ohne Fluoreszenz.

B. Flexner (Manila).

- Weniger starke Trübung.
- Spuren von Indol.
- Koaguliert nach 4—5 Tagen.
- Leichte Rosafärbung nach 8 Tagen.

- e) Gelatineplatte rundliche Kolonien mit unregelmäßigem Rande.
 f) Agar mit Neutralrot keine Reaktion.
 g) Agar mit Saffranin idem.

IV. B. Shiga.

- a) Rothbergers Nährboden keine Farbenveränderung.
 b) Agar mit Chrysoidin langsame Verfärbung in Gelb.

V. B. Shiga.

- Gelatineplatte eine einzige Art Kolonien regelmäßig, rundlich.

2 Arten Kolonien, eine regelmäßig rundlich, die andere unregelmäßig, gelappt. Nach 3 Tagen Verfärbung in Rosa.

Nach 5 Tagen Verfärbung.

B. Flexner (New Haven).

Nach 4 Tagen Verfärbung in Rosa.

Keine Veränderung.

B. Kruse.

2 Arten von Kolonien, rund und regelmäßig die eine Art, unregelmäßig und mit welligem Rande die andere.

Zwischen all diesen Stämmen bestehen also einige kulturelle Unterschiede, wenngleich in verschiedenem Maße. Die Stämme Shiga, Kruse, Flexner (New Haven und Manila) sind bereits von Anderen ausführlich untersucht worden; aber fast alle, die sich in letzter Zeit mit diesem Argument beschäftigt haben, haben den Stamm des B. Celli vergessen, der zuerst isoliert worden ist. Deshalb unterlasse ich, das zu wiederholen, was Andere bereits vor mir über die Dysenteriebacillen im allgemeinen erwähnt haben, und beschränke mich hauptsächlich auf die Unterschiede zwischen B. Celli und B. Shiga. Diese Unterschiede sind im Grunde genommen bei genauerer Beobachtung nur die kräftigere Entwicklung der ersteren und sind bereits von Celli (1) in seiner letzten Arbeit über Dysenterie hervorgehoben worden. In dieser Arbeit werden noch zwei weitere Unterschiede erwähnt:

1) B. Shiga koaguliert Milch nicht, während B. Celli Milch nach 4—6 Tagen — aber inkonstant — koaguliert.

2) B. Shiga bildet niemals Gas, während B. Celli — nicht immer — kleine Blasen bilden kann. Aber schon seit geraumer Zeit bildet B. Celli kein Gas mehr, noch koaguliert es Milch, obgleich es trotzdem die oben erwähnten Unterschiede vom B. Shiga beibehalten hat; ich habe verschiedene Versuche angestellt, damit es diese Eigenschaften wiedererlangt, aber vergebens.

Was die Milchkoagulation anbetrifft, so hat Celli (1) bereits erwähnt, daß sein Bacillus, wenn er lange Zeit nicht durch Tierkörper passiert ist, Milch nicht mehr koaguliert, andererseits kann B. Shiga, wenn er 8—10 Tage auf alkalischer Milch gezüchtet wird, die Fähigkeit erlangen, sie zu koagulieren. Shiga (3) hat dieses Experiment wiederholt, aber mit negativem Erfolge. Ich habe das eventuelle Koagulierungsvermögen der beiden Stämme prüfen wollen, nachdem ich 8—12mal die Tierpassage gemacht hatte (Meerschweinchen und Ratten) und ebenfalls nachdem ich sie 8—12mal nacheinander auf Milch und Kartoffel gezüchtet hatte. Das Resultat dieser Untersuchungen war, daß B. Shiga Milch nicht koaguliert, aber ebensowenig B. Celli.

Daraufhin muß man annehmen, daß die Milchkoagulation eine unbeständige Eigenschaft ist, die verloren gehen kann und manchmal auch gewonnen werden kann, und daß es Stämme des B. dysentericum gibt, denen diese Eigenschaft von der ersten Isolierung an fehlt und andere, die anfänglich Milch koagulieren, obgleich weniger intensiv und konstant wie B. coli, und die dann allmählich diese Eigenschaft verlieren.

Die schwache und unkonstante Gasbildung war ein anderer Unterschied zwischen B. Celli und B. Shiga. Augenblicklich bildet B.

Celli auf keinem Nährboden mehr sichtbar Gas, selbst nicht, wenn man verschiedene Zuckerarten hinzufügt. Mit der Zeit hat er also auch diese Eigenschaft verloren. Es ist durchaus nicht wunderbar, daß Keime einige Eigenschaften verlieren können; dies ist wiederholt von vielen Autoren beobachtet worden. Casagrandi (7) z. B. hat bewiesen, daß die Bakterien im allgemeinen ihre Eigenschaften vollkommen auf den verschiedenen Nährböden ändern können, und zwar so weit, daß Bakterien, die ursprünglich ganz verschieden waren, so große Aehnlichkeit miteinander erlangen können, daß man sie nur mit vielen und feinen diagnostischen Mitteln voneinander unterscheiden kann.

Der von Celli in Aegypten 1895 isolierte *Bacillus* besaß also geraume Zeit die Eigenschaft, inkonstant Gas zu bilden. Andere Stämme des *B. dysentericum* sind isoliert worden, die Gas bilden. Valagussa (8) isolierte ihn aus Stühlen dysenteriekranker Kinder. Schmiedicke (9) isolierte von einem im Lazarett Dysenteriekranker behandelten Füsilier ein Bakterium, das Bouillon mit Traubenzucker gäerte und sich im übrigen wie *B. dys. Shiga*-Kruse verhielt; es wurde vom Serum Dysenteriekranker im Verhältnis von 1:100 in einer halben Stunde agglutiniert. Ito Sukehito (10) hat bei einer Kinderepidemie, die der Dysenterie sehr ähnlich ist (Ekiri), ein Bakterium isoliert, das auf Nährböden mit Traubenzucker Gas und Indol bildet. Diese Keime werden von den Autoren als Pseudodysenterie oder dysenterieähnlich bezeichnet, aber dieser Name beruht auf einer ungerechtfertigten Voraussetzung, auf die ich später noch zurückkommen werde.

Aus dem kulturellen Vergleiche geht also hervor, daß die verschiedenen Dysenteriestämme nicht identisch sind, aber mehr oder minder ähnliche Stämme ein und derselben Species des *B. dysentericum* sind.

III. Agglutination.

Ehe noch die spezifische agglutinierende Reaktion des Serums zu klinisch-diagnostischen Zwecken angewandt wurde, wie dies Widal z. B. als erster bei *B. typhi* eingeführt hat, wurde sie zu bakteriologisch-diagnostischen Zwecken angewandt. Um also die wahre Natur eines wahrscheinlichen *B. dysent.* festzustellen, benutzt man dies wertvolle Mittel. Shiga, Celli, Flexner, Kruse gebrauchten es, um den ätiologischen Wert ihrer resp. Bakterien zu bestätigen.

Celli (11) veröffentlichte 1899 seine ersten diesbezüglichen Experimente: Das Serum einiger Dysenterierekonvaleszenten agglutinierte nach einer Stunde im Verhältnis 1:50 den Dysenteriebacillus, während er die gewöhnlichen Abarten des *B. coli* gar nicht agglutinierte oder nur im Verhältnis von 1:10—1:20. In einer folgenden Arbeit veröffentlichte er das Resultat über eigene Beobachtungen und auch die von Berg-hinz und Valagussa, die die vorangegangenen Resultate vollkommen bestätigten. Shiga fand, daß das Verhältnis, in dem sein Bakterium vom Serum Kranker und Rekonvaleszenten agglutiniert wird, nach Schwere und Zeit der Krankheit von 1:10 zu 1:50 wechselt. Kruse beobachtete wie Celli, daß das Verhältnis 1:50 beinahe nie versagt, und daß manchmal das Resultat auch im Verhältnis von 1:100 (einmal sogar 1:1000) positiv ist. Man kann also aus den Untersuchungen der einzelnen Autoren schließen, daß die Serumdiagnose des *B. Celli* bei Dysenterie in Italien, des *B. Shiga* bei Dysenterie in Japan und des

B. Kruse bei Dysenterie in Deutschland sich gleich verhält und ebenso charakteristisch ist.

Ich konnte gleichzeitig B. Celli und Shiga (in einem Falle auch die beiden Flexners) der Wirkung einiger Sera aussetzen, die Dr. Carnevali mir von von sporadischer Dysenterie Befallenen aus Taibon in der Provinz Belluno schickte, außerdem bei zwei Fällen aus den römischen Krankenhäusern. Die Untersuchungen wurden alle im Verhältnis von 1:50 mit der Pfeiffer-Kolleschen Methode angestellt, die Beobachtungen wurden ebenfalls am Mikroskop kontrolliert.

Klinische Fälle	B. Celli	B. Shiga	B. Flexner New Haven	B. Flexner Manila	B. Kruse
1) B. H., Taibon, Schmied, 37 J. alt, 6. Tag der Krankheit	A ₁ = + +	A ₂ = + + +			
2) B., Taibon, 18 Jahre, 6. Tag der Krankheit	A ₂ = + + +	A ₂ = + + +			
3) Ben., Taibon, 32 Jahre, Rekonvaleszent	A ₂ = + + +	A ₂ = + + +			
4) M., Taibon, 62 Jahr, 10. Tag der Krankheit	A ₂ = + +	A ₂ = + +			
5) D. N., Taibon, 22 Jahr, 10. Tag der Krankheit	A ₂ = + +	A ₂ = + + +			
6) A. schwerer Dysenteriefall, 10. Tag der Krankheit, Patient starb im Krankenhaus. Diagnose wurde bei der Sektion bestätigt	A ₆ = + + +	A ₆ = + +	A ₆ = + +	A ₆ ±	
7) N. Dysenteriefall, 15. Tag der Krankheit	A ₁ = + A ₂ = + +	A ₂ = + + +		A ₂ = +	A ₂ = + + +

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß in Fall 1, 5, 7 B. Celli etwas weniger agglutinationsfähig ist als B. Shiga, während in Fall 6 das Gegenteil vorgekommen ist, in den anderen Fällen haben sich die beiden Stämme gleichmäßig verhalten. Von den beiden B. Flexner verhielt sich in dem einen Falle, wo sie angewandt wurden, der New Haven wie B. Kruse und Shiga, während sich der Manila erst nach 6 Stunden langsam agglutinierte. Auch im Fall 7 agglutinierte B. Manila sofort, obgleich weniger intensiv als die anderen. Diese einzige Beobachtung bestätigt die ausführlicheren Beobachtungen Schmiedickes (9), Martini-Lentzs (5) und Shigas selbst (3). Erstere behaupteten, daß der Unterschied so groß sei, daß sie den Stamm Manila aus der Gruppe der eigentlichen Dysenteriebacillen ausschalteten. Ihr Urteil beruht beinahe hauptsächlich auf dem Agglutinationsvermögen.

Bei der Agglutination kann man das wiederholen, was

ich in Bezug auf die kulturellen Eigenschaften gesagt habe: Wenn die Ursache der Krankheit auch immer dieselbe Bacillenspecies ist, kann dieselbe doch verschiedene Abarten haben, deren Eigenschaften nicht immer ähnlich zu sein brauchen und ebenfalls inkonstant sein können. Was das Agglutinationsvermögen betrifft, so können sie eine Reihe gemeinsamer Rezeptoren besitzen und eine Anzahl verschiedener. Das erklärt die Abweichungen in den Resultaten der einzelnen Autoren bei den verschiedenen Dysenteriebacillen. Diese Behauptung wird durch Tatsachen bestätigt. Shiga (3) hat vor allen Dingen beobachtet, daß sein Bacillus und der Kruses vollkommen die Agglutinine und Agglutinoide absorbieren, die eventuell im Pferdeantidysenterieserum enthalten sind, während *B. Flexner* (welcher?) sie nur in ganz kleiner Quantität absorbiert. Außerdem hat er beobachtet, daß *B. Kruse*, wenn er 10mal hintereinander auf Milch gezüchtet wird und dann auf Agar, nicht mehr vollkommen die agglutinierenden Stoffe absorbierte, aber sich wie der *B. Flexner* verhielt. Das beweist, daß das geringe Agglutinationsvermögen des *B. Flexner* nicht eine Eigenschaft ist, die ermächtigt, ihn aus der Gruppe der Dysenteriebacillen auszuschneiden. Kürzlich hat M. Wollstein (12) aus einer Anzahl von Fällen von Kinderdiarrhöe mit schleimig-blutigen Stühlen einen *B. dysent.* isoliert, Typus Manila; das Serum dieser Kranken agglutinierte den *B. Flexner*, aber nicht den Shigas; trotzdem sind aber beide Dysenteriebacillen.

Außer mit Serum Dysenteriekranker oder Rekonvaleszenten wurden die serumdiagnostischen Untersuchungen mit dem Serum eines mit *B. Celli* immunisierten Pferdes angestellt (von Prof. Belfanti aus Mailand zu unserer Verfügung gestellt). Dieses Serum agglutinierte nach 6 Stunden *B. Celli* im Verhältnis von 1:1000, *B. Shiga* im Verhältnis von 1:500, weniger stark *B. New Haven* im Verhältnis von 1:500 und noch weniger *B. Manila* im Verhältnis von 1:100. Ich wollte sehen, ob sich das Agglutinationsvermögen dieser Bacillen nach Passagen auf verschiedenen Nährboden oder durch Tierkörper änderte, aber mit den angewandten Mitteln erhielt ich keine bemerkenswerte Aenderung. Weder nach der 13. Passage auf Kartoffeln noch nach der 8. Passage durch Meerschweinchenkörper und nach der 12. durch Katzen zeigten die 4 Bacillen irgendwelche Aenderung in ihrem Verhalten zu dem Serum des mit *B. Celli* immunisierten Pferdes. Damit soll nicht gesagt sein, daß man mit anderen Methoden nicht auch zu anderen Resultaten gelangen könne; es widerspricht daher nicht dem, was Shiga in Bezug auf *B. Kruse* und *Flexner* beobachtet hat.

Obleich die positiven Resultate des Agglutinationsvermögens mit dem Serum des durch *B. Celli* immunisierten Pferdes genügten, um festzustellen, daß die untersuchten Stämme verwandt seien, habe ich trotzdem noch versucht, einen umgekehrten Beweis zu erlangen, durch Agglutination der verschiedenen Stämme mit Serum durch *B. Shiga* immunisierter Tiere. Zu diesem Zwecke injizierte ich Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen mit immer stärkeren Dosen Bouillonkultur von 24-stündigem *B. Shiga*, 3mal, nach Zwischenräumen von 5—6 Tagen; 5—8 Tage nach der letzten Einspritzung prüfte ich das Agglutinationsvermögen des Serums. Zur Kontrolle diente *B. coli*. Die Beobachtungen wurden auch mikroskopisch kontrolliert.

Serumart	B. Celli	B. Shiga	B. Flexner New Haven	B. Flexner Manila	B. coli
Serum mit B. Shiga immunisierten Kaninchen	$A_2 = 1:25$ $A_6 = 1:100$	$A_2 = 1:50$ $A_6 = 1:100$	$A_6 = 1:50$	$A_6 = 1:10$	$A_6 = 0$
Serum mit B. Shiga immunisierten Katzen	$A_2 = 1:25$ $A_6 = 1:50$	$A_2 = 1:50$ $A_6 = 1:100$	$A_6 = 1:100$	$A_6 = 1:25$	$A_6 = 1:10$
Serum mit B. Shiga immunisierten Meerschweinchen	$A_2 = 1:10$ $A_6 = 1:50$	$A_2 = 1:25$ $A_6 = 1:50$	$A_2 = 1:25$ $A_6 = 1:50$	$A_6 = 1:10$	$A_6 = 0$

Im allgemeinen erfolgte die Agglutination des B. Shiga rascher und kräftiger als die der anderen Stämme.

Unterschiede waren nach der Qualität des Serums ebenfalls wahrzunehmen. Außerdem hat kein Serum und kein Bacillus ein besonders starkes Agglutinationsvermögen ergeben; auch Dombrowsky (13) beobachtete beim Kaninchen, nachdem er ungefähr dieselbe Immunisationsmethode anwendete, mikroskopisch die Agglutination, die im Verhältnis von 1:20 zu 1:150 schwanken. Auf jeden Fall ist die agglutinierende spezifische Wirkung des mit B. Shiga immunisierten Tierserums nicht nur bei dem B. Shiga, sondern auch bei den anderen Stämmen deutlich sichtbar; auch hier zeigte sich der Stamm Manila wenig agglutinationsfähig. Das Katzen-serum agglutinierte auch B. coli im Verhältnis von 1:10, aber der Wert dieses Verhältnisses im Vergleich zu denen 1:100, in dem die Dysenteriebacillen agglutiniert werden, ist unbedeutend und als eine normale agglutinierende zu betrachten. Leider konnte ich B. Kruse bei diesen Untersuchungen nicht in Betracht ziehen, da ich ihn noch nicht besaß. Aber da beinahe alle Autoren gefunden haben, daß er sich bei der Agglutination wie B. Shiga verhält, kann ich das wiederholen, was ich betreffs B. Shiga gesagt habe.

Bei dem Agglutinationsverfahren kann man die Stämme Celli, Shiga, Kruse, Flexner, New Haven von dem Stamme Manila unterscheiden, aber da auch dieser ein Dysenteriebacillus ist, kann man den Schluß daraus ziehen, daß das Agglutinationsvermögen im allgemeinen nicht den diagnostischen Wert bei der Bestimmung der Dysenteriebacillen hat, den einige ihm zusprechen wollen.

IV. Toxische Produkte. Pathogene Wirkung. Serumtherapie.

Seit 1896 bestand Celli (14) darauf, daß eines der hauptsächlichsten Merkmale zum Unterscheiden des Dysenteriebacillus seine toxische Wirkung ist, besonders auf den Dickdarm kleiner Katzen. Er stellte dabei fest, daß die toxische Wirkung am besten geeignet ist, den ätiologischen Erreger der Dysenterie festzustellen. Celli berichtete seine zahlreichen verschiedenen, diesbezüglichen Experimente in drei Arbeiten (1, 11, 14) über die Aetiologie der Dysenterie. Die späteren Autoren, die Dysenteriestämme isoliert haben, beschäftigen sich ebenfalls mit diesem Argument, vergessen dabei aber vollkommen die Cellischen Experimente, der sich mit diesen Untersuchungen sofort nach Isolierung des ätiologischen Dysenterieerregers beschäftigte

und mehrere Jahre ohne Unterbrechung seine Arbeiten fortsetzte. In seinen oben erwähnten Arbeiten berichtet er ausführlich über die toxische Wirkung des Dysenteriebacillus, über die Methode, das Gift zu gewinnen, über die Symptomatologie, die sie in den Versuchstieren hervorruft, über die anatomischen Veränderungen. Hier erwähne ich nur, daß die erste Substanz, die er aus einer Bouillonkultur erhielt, ein Toxoprotein war, das eine lokal pyogene und allgemein marantische Wirkung ausübt. Wenn es in geeigneten Dosen injiziert wird, verursacht es Hyperämie, Blutergüsse, blutige Infiltration und manchmal oberflächliche, manchmal tiefere Nekrosen. Zusammen mit Dr. Valenti (11) gebrauchte er darauf die von Koch angewandte Methode zur Trennung des TR von TO und versuchte bei Tieren den TR korrespondierenden Stoff CR. Da dieser weniger irritierend und pyogen giftig war, wurde er zur Immunisierung großer Tiere angewandt.

Die Studien Conradis, die Drigalski (6) anführt, bestätigen die Cellis. Conradi hat in der Tat gesehen, daß die mit Chloroform getöteten und dann den Kaninchen intravenös injizierten Dysenteriebacillen Diarrhöe und Darmläsionen hervorrufen, die große Ähnlichkeit mit dem pathologischen Bilde der menschlichen Dysenterie haben. Dieselbe Wirkung haben auch die aus den Bacillenkörpern extrahierten Stoffe, die in Wasser löslich sind. Weder Conradi noch Drigalski erwähnen die Cellischen viel früheren Experimente. Neisser und Shiga (15), die sich nach ihnen mit der Frage beschäftigt haben, erwähnen den kurzen Conradischen Bericht an Drigalski, aber die von Celli erhaltenen Resultate nicht. Die toxische Wirkung des *B. dysent.* ist noch Gegenstand der Untersuchungen in unserem Laboratorium.

Was die Virulenz anbetrifft, so kann ich hier kurz das Resultat einiger Experimente erwähnen: Die 24-stündige Bouillonkultur des *B. Celli* und *B. Shiga*, subkutan oder unterhalb des Bauchfells injiziert, tötet Meerschweinchen in 14–30 Stunden und Kaninchen in 48–72 Stunden; die minimal letale Dosis des *B. Celli* ist für Meerschweinchen von ca. 250–300 g, 0,25 und 0,50 ccm für Kaninchen. Die Dosis bei *B. Shiga* ist etwas größer (0,50 bei Meerschweinchen, 1–2 bei Kaninchen). Diese Unterschiede beruhen auf dem verschiedenen Grad der Virulenz, die von der verschiedenen Zahl der Tierpassagen abhängt.

Die Meerschweinchen und Kaninchen starben mit Symptomen einer Septikämie, aber ohne Diarrhöe; bei der Sektion fand ich nichts, besonders im Darm, außer einer Hyperämie, und bei der Injektion ins Peritoneum ein trübes seröses Exsudat in mäßiger Quantität. Bei intravenöser Einspritzung des *B. Celli* starben die Kaninchen nach 12–24 Stunden, bei der *B. Shigas* nach 48–56 Stunden. Einige der injizierten Kaninchen hatten diarrhoische Erscheinungen und bei der Sektion war die Darmschleimhaut mit Schleim bedeckt und hyperämische Flecken waren darauf verbreitet.

Zu bemerken ist noch, daß, obgleich die Katzen den Einspritzungen mit lebenden Kulturen gegenüber viel widerstandsfähiger sind, sie doch viel leichter auch kleinen Dosen des aus den Bakterien extrahierten Giftes erliegen.

Ich habe bereits erwähnt, daß Celli außer den zuerst isolierten Toxoproteinen aus den Bakterienkörpern mit der Kochschen Methode eine Substanz CR bereitete, der nach einigen Experimenten ein größeres

Epidemie-jahr	Ort der Epidemie	Behandelnder Arzt	Fälle		Bemerkungen
			behandelt	geheilt	
1898	Udine	Berghinz	9	7	In einem der beiden letal verlaufenen Fälle wurde aus dem Stuhl Staphylococcus aureus isoliert, in dem anderen wurden arteriosklerotische Läsionen u. Herzfehler festgestellt. Andere 4 Fälle, die nicht mit Serum behandelt worden waren, verliefen letal
1899	Rom	Valagussa	18	17	Alles Fälle von Kinderdysenterie. Dem einzigen Kind, das starb, wurde die Einspritzung zu spät gemacht
1899	"	Spolverini	2	2	Kinder
1899	"	Panegrossi	1	1	Kind
1899	"	Arcangeli	1	1	Sehr schwerer Dysenteriefall im Krankenhaus S. Giovanni
1899	Aegypten	Legrand	1	1	Typischer Dysenteriefall
1900	Rom	Valagussa	24	21	Alles Kinder. Die 3 letal verlaufenen Fälle waren sehr schwer. Die anderen 21 heilten mehr oder minder rasch nach der Schwere der Krankheit.
1900	"	Pecori	1	1	Sehr schwerer Fall, ungefähr 25 schleimig blutige Entleerungen pro Tag. Es wurden 2 Einspritzungen von je 10 ccm in 2 aufeinanderfolgenden Tagen gemacht. Tenismus und blutiger Stuhlgang hörten auf. Als am 4. Tage wieder Spuren davon auftraten, wurde eine 3. Einspritzung vorgenommen, die genügte, daß die Krankheitserscheinungen aufhörten und der Kranke nach 2 Tagen ganz geheilt war.
1901	Vitorchiano Prov. Rom	Corseri	11	10	Schwere Epidemie, bei der 15 Kranke starben. Nur einer der 11 mit Serum behandelten starb; zu bemerken ist, daß ihm die Einspritzung gemacht wurde, als er sich schon im präagonalischen Stadium befand.
		Total	68	61	Prozentsatz der Fälle 89,72

Immunisierungsvermögen zuerkannt wurde als dem Toxoprotein. Er immunisierte Esel mit nach und nach steigenden subkutanen Injektionen. Das Serum dieser Esel besaß eine hervorragende agglutinierende Wirkung auf den Dysenteriebacillus und gar keine oder sehr geringe auf die Colibacillen, die aus den Stühlen gesunder und kranker Personen isoliert wurden. Seine kurative Wirkung wurde auch beim Menschen erprobt, und Berghinz (16) 1898 und Valagussa (8) 1899, später Spolverini, Panegrossi, Arcangeli, Legrand, Rees gebrauchten es mit gutem Erfolge. Das Cellische Antidysenterieserum wurde und wird zu kurativen Zwecken angewandt.

Vorstehende Tabelle enthält die mit diesem Serum behandelten Fälle.

In anderen, in der Tabelle nicht angeführten Fällen wurde das Celli-Valentische Antidysenterieserum, und immer mit gutem Erfolg von Rees im Seemannskrankenhaus in London und zahlreichen Kollegen in Rom und Umgebung und in der Kinderklinik unserer Universität angewandt.

Shiga hat ebenfalls ein Antidysenterieserum gewonnen. 1901 berichtete er von 500 Dysenteriefällen, 200 wurden mit den gewöhnlichen Mitteln behandelt, 300 mit seinem Serum. Der Sterblichkeitsprozentsatz verminderte sich um $\frac{1}{3}$ bei den mit Serum behandelten Kranken.

1901 bereitete Kruse ebenfalls ein bakterizides Antidysenterieserum, indem er Esel und Pferde immunisierte. Sein Prozentsatz der Heilungen nähert sich dem mit dem Cellischen Serum (auf 100 8 Tote). Kruse bemerkt außerdem, daß sein Serum keine Wirkung auf die Pseudodysenterie (hinsichtlich dieser Benennung verweise ich auf das Ende dieser Arbeit), weder auf die sporadische noch auf die Dysenterie Geisteskranker, ausübt.

Vergleich zwischen *B. coli*, *B. dysentericum* und *B. typhi*.

Der Dysenteriebacillus gehört ohne Zweifel zu der reichen Bakteriengruppe, aus der *B. coli* und *B. typhi* besonders hervortreten.

Diese drei Mikroorganismen sind als Species jetzt genau voneinander unterschieden. Daß der Dysenteriebacillus zu dieser Gruppe gehört, hatte bereits Celli festgestellt, der ihn 1895 isoliert hatte und hauptsächlich durch seine toxische Wichtigkeit erkannt hatte; er nannte ihn deshalb *B. coli dysentericum*, um ihn von den Abarten des *B. coli* zu unterscheiden, die man im kranken und gesunden Darm findet.

Die kulturellen und biologischen Eigenschaften der Dysenteriebacillen und seiner Abarten wurden immer mehr von Celli, Shiga und Kruse erkannt, je mehr die Bakteriologie an diagnostischen Mitteln zunahm.

Ich fasse hier die hauptsächlichsten morphologischen und kulturellen Eigenschaften dieser drei Bakterienarten zusammen, die von mir wiederholt beobachtet und kontrolliert worden sind (s. Tabelle p. 174).

Außerdem hat Scarzella beobachtet, daß in verschiedenen mit Anilinfarben gefärbten Nährböden die Stämme des *B. dysentericum* sich fast immer anders verhalten als *B. coli* und *B. typhi*. Die diesbezüglichen Resultate wird Scarzella nächstens selbst veröffentlichen.

Der Dysenteriebacillus muß also als eine besondere Art angesehen werden. Ebenso wie *B. typhi* und *coli* Ab-

Nährboden	B. coli	B. dysentericum	B. typhi
	Im allgemeinen beweglich, wenig Geißeln	Lebhafte molekulare Bewegung, keine Geißeln, größer als B. typhi und einige Abarten des B. coli	Lebhafte Eigenbewegung, viele Geißeln
Bouillonkultur	Stark getrübt, mit reichlichem Bodensatz	Im allgemeinen mäßig getrübt, mit geringem Bodensatz	Mäßig getrübt mit geringem Bodensatz
Gelatinestich	Fadenförmig, üppig, Auflage dick, verbreitet, mit lappigem Rand	Fadenförmig weiße Auflage, wenig oder zarter, kaum sichtbarer Belag	Fadenförmig weiße Auflage, genährt oder spärlich
Agarstrich	Dicker Belag, mit stark getrübttem Kondenswasser	Zarter Belag mit mäßig getrübttem Kondenswasser	Zarter Belag mit wenig getrübttem Kondenswasser
Kartoffelstrich	Dicker, fetter, weißschmutziger Belag	Feuchtes, zartes Häutchen	Keine sichtbaren Häutchen
Gelatineplatte 12 Proz.	Große, dicke, braune, rundliche, körnige Kolonien	Kleine, rundliche oder gelappte Kolonien, makroskopisch taupfropfenähnlich, weißlich glänzend; mit geringer Vergrößerung gelblich	Kleine und große Kolonien, rundlich oder gelappt, mit Einschnitten an der Oberfläche, makroskopisch weißlich, bei geringer Vergrößerung gelblich-braun
Zuckernährböden	Gasbildung	Im allgemeinen keine merkliche Gasbildung	Keine Gasbildung
Milch oder künstliches Milchserum	Milchkoagulation nach 12—24 Stunden	Im allgemeinen keine Milchkoagulation	Keine Milchkoagulation
Rothberger'scher Nährboden	Gasbildung und Fluoreszenz	Weder Gasbildung noch Fluoreszenz	Weder Gasbildung noch Fluoreszenz
Klopstock'scher Nährboden	Säure und Gasbildung und Koagulation	Säurebildung ohne Gas und ohne Koagulation	Säurebildung ohne Gas und mit langsamer und unvollständiger Koagulation
Omelianski'scher Nährboden	Rosafärbung nach 12—24 Stunden	Im allgemeinen keine Veränderung	Nach 7—8 Tagen leichte Rosafärbung
Drigalski-Connradische Platte	Rote Kolonien mit Rotfärbung des Serums	Blaue Kolonien auf blauem Grunde	Blaue Kolonien auf blauem Grund

arten haben, hat sie ebenfalls der Dysenteriebacillus. Diese Tatsache nicht einsehen zu wollen, die Bakterien-species als etwas Unveränderliches, Feststehendes ansehen zu wollen, heißt die Wahrheit nicht einsehen wollen. Eine Veränderlichkeit gewisser Eigenschaften ein und desselben Infektionskeims ist von Allen anerkannt worden; deshalb können also kleine, unbeständige Unterschiede nicht bakteriologische Zwecke dienen.

Was die Dysenteriebacillen betrifft, so haben meine Untersuchungen erlaubt, die fünf untersuchten verschiedenen Stämme in drei Abarten einzuteilen: 1) Celli, 2) Shiga, Kruse, Flexner New Haven, 3) Flexner Manila.

Martini und Lentz (5) betrachten die 3. Art nicht als wahren

Dysenteriebacillus; aber Schmiedicke (9) folgert aus seinen Untersuchungen, daß der Stamm Manila zu den Dysenteriebacillen gehört oder ihm sehr ähnlich ist. Ich stimme mit Schmiedicke im letzteren Sinne überein. Martini und Lentz meinen, daß *B. Manila*, obgleich kulturell ähnlich, obgleich vom Serum Dysenteriekranker und Rekonvaleszenten agglutiniert (nach Aussagen Flexners und anderer amerikanischer Beobachter), nichts mit dem wahren *Dysenteriebacillus Shiga* gemein hat; um die Natur eines vermutlichen *Bacillus* festzustellen, müsse man die Grenze seiner Agglutinationsfähigkeit gegenüber dem Serum eines mit dem eigentlichen *Dysenteriebacillus* immunisierten Tieres prüfen.

Diese Behauptung setzt natürlich voraus, daß genau bestimmt wird, welcher Stamm der eigentliche *Dysenteriebacillus* sei. Die meisten Autoren haben als einziges Muster den *B. Shiga* und *B. Kruse* angenommen, und behaupten folglich: Alle die *Bacillen*, die ihnen nicht vollkommen ähnlich sind und vor allen Dingen, die wenig oder gar nicht vom Serum eines mit einem von beiden Stämmen injizierten Tieres agglutiniert werden, seien dysenterieähnliche oder Pseudodysenteriebacillen. Dieses voreilige Urteil ist nicht richtig. Jürgens (19) bemerkt mit Recht, daß die Dysenterie bis jetzt nur ein klinischer Begriff ist, und daß die Dysenteriefälle, besonders die sporadischen, nicht einmal klinisch besonders charakteristisch sind. Die *Dysenteriediagnose* wird noch heute, nach so vielen ätiologischen Studien, klinisch festgestellt; selbstverständlich mußten diejenigen, die die ersten ätiologischen Untersuchungen über die Krankheit machten, sie klinisch feststellen.

Celli konnte 1895 in Aegypten nur klinisch feststellen, daß die epidemischen Fälle, die er ätiologisch untersuchte, wirklich *Dysenteriefälle* wären: Er isolierte sein *B. coli dysentericum* und erklärte es für die Ursache der Krankheit.

Nach 2 Jahren isolierte *Shiga* in Japan in verschiedenen *Dysenteriefällen* einen anderen *Dysenteriebacillus*; auch er mußte klinisch die *Diagnose* „*Dysenterie*“ feststellen und somit den ätiologischen Wert seines *Bacillus*.

Später isolierten *Kruse*, *Flexner*, *Pfuhl* und andere Gelehrte andere Stämme, alle mußten natürlich vom klinisch-diagnostischen Standpunkte ausgehen.

Keiner der Autoren kann behaupten, daß bei den unzweifelhaften klinischen Verschiedenheiten der epidemischen und sporadischen *Dysenterie* nur der von ihnen isolierte *Bacillus* der *Dysenterieerreger* sei, und daß alle anderen *Bakterien*, die bei dieser Krankheit isoliert werden und nicht mit ihrem identisch sind, mit der *Dysenterieätiologie* nichts zu tun haben. *Shiga* und *Kruse* behaupten dies. Alle *Bakterien*, die mit ihren Stämmen nicht identisch sind, sind für sie keine *Dysenteriebacillen*. Dies ist übertrieben. Den klinischen Varietäten entsprechen die ätiologischen Varietäten. Dies beweist ein von *Sukehito* (10) isoliertes *Bakterium* bei *Ekiri* (einer Art epidemischer *Kinderruhr*). Auch klinisch ähnliche Formen entsprechen manchmal auch ziemlich verschiedenen Ursachen. Der Stamm *Manila* wurde in *Dysenteriefällen* isoliert, deren klinische Form nicht von denen abwich, in denen der Stamm *New Haven* isoliert wurde; trotzdem sind beide Stämme ziemlich verschieden, da der erstere sich weniger als der zweite dem *B. Shiga* nähert. Kürzlich hat *Jürgens* (19) in verschiedenen Fällen, die ein genaues *Dysenteriekrankheitsbild* boten, ein *Bakterium* isoliert,

das sich vom B. Kruse in einigem unterscheidet, worin, ist aber noch nicht veröffentlicht worden.

Während nun von allen Seiten über die Prioritätsfrage der Entdeckung des Dysenteriebacillus gestritten wird, kann ich nicht umhin, etwas darauf einzugehen. Nachdem, was ich gesagt habe, muß die Frage so gestellt werden: Welche Art des Dysenteriebacillus, von dem es verschiedene Arten gibt, wurde zuerst isoliert und als Ursache der Dysenterie angesehen?

Vor Celli hatten verschiedene andere Autoren die Ursache der Dysenterie gesucht. Chantemesse und Widal (20) haben die genauesten Untersuchungen darüber angestellt, sie beschrieben eine Bakterienart, die fähig ist, eine diphtherieähnliche Entzündung auf der Schleimhaut des Dickdarmes hervorzurufen; ähnliche Veränderungen konnten nach Baumgarten auch vom gewöhnlichen Bact. coli und anderen Bakterien hervorgerufen werden. Kürzlich ist Chantemesse (21) auf die Arbeit zurückgekommen, indem er erklärte, daß die von Celli, Shiga, Kruse und anderen deutschen und amerikanischen Autoren isolierten Dysenteriebacillen ähnliche Formen wären, wie diejenigen, die er und Widal 1888 gefunden hätten. Die Beschreibung ihres Mikroorganismus ist aber ungenügend, um einen Vergleich festzustellen und sie danach beurteilen zu können. Hauptsächlich hat kein Autor, wie Celli, die Eigenschaften der Dysenteriebacillen so klargelegt, daß man ihn von der Unzahl der coli- und typhusähnlichen Bacillen, die man bei Gesunden und Kranken findet, unterscheiden konnte.

Eine Abart des Dysenteriebacillus ist 1895 in Aegypten von Celli isoliert worden, der sich zum Studium der Dysenterie dorthin begeben hatte.

Eine zweite Abart des Dysenteriebacillus isolierte Shiga 1897 in Japan; Kruse fand dieselbe Abart des B. Shiga in Deutschland und untersuchte sie genauer. Flexner (22) isolierte 1899 auf den Philippinen eine dritte Abart des Dysenteriebacillus (Stamm Manila) und isolierte dann an der Ostküste der Vereinigten Staaten einen anderen Stamm, der zur Abart Shiga-Kruse gehört. Ich erwähne die anderen Isolierungen nicht, da sie nur die Wiederholung der Studien der oben genannten Autoren sind, wenn auch zu anderer Zeit und an anderen Orten angestellt.

Schlußfolgerungen.

- 1) Der Dysenteriebacillus ist eine genaue, vom B. coli und B. typhi getrennte Gruppe, die aber einige Abarten haben kann.
- 2) Die fünf von mir untersuchten Mikroorganismen können in drei Abarten geteilt werden: Celli, Shiga-Kruse, Flexner (Manila). Diese Abarten haben den größten Teil ihrer Eigenschaften gemein.
- 3) Sowohl B. Celli wie B. Shiga rufen, wenn sie Tieren injiziert werden, Agglutinationsbildung hervor, die größere Wirkung auf den injizierten Bacillus, geringere auf die anderen und noch geringere auf den Stamm Manila haben.
- 4) Die Dysenteriebacillen sind für Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen pathogen und verursachen besondere Läsionen der Darm-schleimhaut.
- 5) Mit dem Dysenteriebacillus können große Tiere immunisiert werden, deren Serum präventive und kurative Wirkung bei der menschlichen Dysenterie hat. (Antidysenterieserum Celli-Valenti, Serum Shiga, Serum Kruse.

Nachtrag bei der Korrektur.

Nach der Uebersendung meines Manuskriptes an die Redaktion des Centralblattes sind einige Beobachtungen von verschiedener Seite veröffentlicht worden, die mit meinen eigenen Ergebnissen übereinstimmen.

Gelegentlich einer Erörterung über bakteriologische Dysenterieuntersuchung in der Gesellschaft für innere Medizin und Kinderheilkunde in Wien sprachen Jehle und Leiner die Ueberzeugung aus, daß die Aetiologie der Ruhr keine einheitliche sei, da bald einige, bald andere Stämme aus den Entleerungen gezüchtet worden sind. (Berichtet in *La semaine méd.* 1904. p. 53.)

B. H. Firth, A comparative study of some dysentery bacilli (Bull. de l'Institut Pasteur. T. II. p. 151) schließt aus seinen Untersuchungen, daß 2 Gruppen von Dysenteriebacillen zu unterscheiden sind.

v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. 1904. p. 797) behauptet neulich, daß er Anlaß hat, „auch für die Bakteriendysenterie zwei klinisch ganz ähnliche, ätiologisch getrennte, wenn auch sich sehr nahestehende Formen — analog wie bei Typhus — anzunehmen“.

Bibliographie.

- 1) Celli, Zur Aetiologie der Dysenterie, neue Beobachtungen. (v. Leiden-Festschr. Bd. I. 1900.)
- 2) Vedder and Duval, The etiology of acute dysentery in the United States. (Journ. of exp. med. Vol. VI. 1902. No. 2.)
- 3) Shiga, Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. 1902.)
- 4) Cerrito, Nuovo metodo di colorazione delle ciglie dei batteri. (Ann. d'Igiene sper. Vol. XIII. 1903.)
- 5) Martini und Lentz, Ueber die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902. p. 540.)
- 6) Drigalski, Beobachtungen und Untersuchungen über die Ruhr. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Militärsanitätswesens. 1902. Heft 20. p. 106.)
- 7) Casagrandi, Relazione tra batteri proto-, meta- e paratrofi. (Ann. d'Igiene sper. 1902 e 1903.)
- 8) Valagussa, Etiologia e sieroterapia della dissenteria dei bambini. (Ann. d'Igiene sper. 1900.)
- 9) Schmiedicke, Beobachtungen und Untersuchungen über die Ruhr. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Militärsanitätswesens. 1902. Heft 20. p. 78.)
- 10) Sukehito, J., Ueber die Aetiologie von Ekiri. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. No. 6 u. 7.)
- 11) Celli und Valenti, Nochmals über die Aetiologie der Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.)
- 12) Wollstein, M., The dys. bacillus in a serie of cases of infantile diarrhoea. (Journ. of med. research. Vol. X. 1903. No. 1.)
- 13) Dombrowsky, Zur Biologie der Ruhrbacillen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. 1903. Heft 3. p. 256.)
- 14) Celli, Etiologia della dissenteria ne'suoi rapporti col b. coli col e colle sue tossine. (Ann. d'Igiene sper. Vol. VI. 1896.)
- 15) Neisser u. Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen etc. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)
- 16) Berghinz, Sieroterapia nella dissenteria. (Ann. d'Igiene sper. 1900.)
- 17) Shiga, Studien über die epidemische Dysenterie in Japan etc. (Dtsche med. Wochenschr. 1901.)
- 18) Kruse, Die Bluterumtherapie bei der Dysenterie. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 1 u. 3.)
- 19) Jürgens, Zur Aetiologie der Ruhr. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 46.)
- 20) Chantemesse et Widal, Acad. de méd. 1888.
- 21) Chantemesse, Presse méd. 1902. No. 59.
- 22) Flexner, On the etiology of tropical dysentery. (Johns Hopkins Hosp. Bull. Vol. XI. 1900. p. 115.)

Nachdruck verboten.

Beiträge 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.

(Schluß.)

Von diesen Gesichtspunkten aus können wir bei Erörterung der eingangs aufgeworfenen Frage, was über den „*Bacillus oedematis maligni*“ bekannt sei und wie sich das Verhältnis dieser Bakterienart unserem *Bacillus* gegenüber gestalte, eine kleinere Gruppe der aus der Literatur zitierten Arbeiten für die weiteren Auseinandersetzungen gleichfalls ausschalten: Vor allem haben die von Klein und Novy beschriebenen Bacillen, die „neuen Bacillen des malignen Oedems“ mit dem „*Bacillus oedematis maligni* R. Koch“ nichts zu tun, ebenso nicht mit dem von uns beschriebenen *Bacillus*, worauf wir an den einschlägigen Stellen bereits hingewiesen haben.

Das Gleiche gilt auch für die von Freudenreich und Gfeller, sowie von Petri beschriebenen Bacillen.

Etwas schwieriger gestaltet sich die Entscheidung bei den von Penzo untersuchten *Bacillus*, doch widerspricht das angegebene Verhalten von Reinkulturen gegenüber Tieren — demzufolge der gewöhnliche pathologisch-anatomische Befund des „malignen Oedems“ fehlte und auch im Tierkörper keine Vermehrung der injizierten Bacillen stattfand, entschieden den Befunden von R. Koch und Gaffky. Wir dürfen deshalb unserer Meinung nach auch diesem *Bacillus* nicht ohne weiteres das Recht einräumen, „*Bacillus* des malignen Oedems“ genannt zu werden, da eben durch denselben, trotzdem er sich als pathogen erwies, das „maligne Oedem“ im Sinne von R. Koch und Gaffky nicht erzeugt werden konnte.

Den gleichen Standpunkt müssen wir auch gegenüber den von Silberschmidt aus seinen Fällen gezüchteten Bacillen einnehmen. Denn auch die von diesem Autor untersuchten Stämme waren nicht im stande, bei Versuchstieren das Bild des „malignen Oedems“ von R. Koch und Gaffky hervorzurufen. Die Diagnose Silberschmidts, daß es sich in seinen 2 Fällen um einen — er identifiziert beide Stämme — „der Gruppe des malignen Oedems“ angehörigen *Bacillus* handle, stützte sich auf die Beweglichkeit und Sporenbildung, auf die rasche Verflüssigung der Gelatine, die Peptonisierung der Milch und den von sämtlichen Kulturen verbreiteten üblen Geruch. Von allen diesen Merkmalen ist allein die Eigenschaft der Beweglichkeit und der Sporenbildung sowohl dem von R. Koch und Gaffky als auch dem von Silberschmidt beschriebenen *Bacillus* gemeinsam. Will man auch die Untersuchungen jener Autoren heranziehen, die — wie wir später sehen werden — mit gutem Rechte ihre Bacillen als solche des „malignen Oedems“ angesprochen haben, so könnte man höchstens noch in der Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, ein die Diagnose stützendes Moment erblicken. Ueber das Verhalten der Milchkulturen findet man in der

Literatur zu wenig Angaben, um auch diese diagnostisch verwerten zu können, und auf die Widersprüche bezüglich des Geruches haben wir anderenorts genugsam hingewiesen. Die Behauptung Silberschmidts, daß der Pathogenität für Tiere keine diagnostische Bedeutung zukomme, können wir für die in Rede stehende Bakterienart vorläufig nicht für bewiesen halten. Und wenn Silberschmidt darin, daß er mit seinem „direkt vom Menschen stammenden Materiale“ negative Tierversuche erhielt, den Beweis erblicken will, „daß die Passage durch den menschlichen Organismus die Tierpathogenität des Bac. oedematis nicht notwendigerweise“ erhöhe, ohne vorher den Beweis erbracht zu haben, daß es sich tatsächlich auch um Bacillen handle, die man berechtigt ist, als Bacillen des malignen Oedems anzusehen, so können wir diesen Schluß nicht gelten lassen. Wir wissen heute allerdings noch nicht, inwieweit die Tierpathogenität bei diesen Bakterien als differentialdiagnostisches Moment in Frage komme. Es ist ja denkbar, daß man infolge weiterer Untersuchungen und Erfahrungen auch nicht-pathogene Bacillen — vielleicht auf Grund von Immunisierungsversuchen und serotherapeutischen Methoden — mit jenen Bacillen werde identifizieren müssen, die als „Oedembacillen“ im Sinne von R. Koch und Gaffky anzusehen sind — analog den Verhältnissen bei manchen anderen Bakteriengruppen — doch fehlen uns diese Erfahrungen heute noch und können erst nach eingehenden, derzeit noch ausstündigen Untersuchungen gewonnen werden.

Man wird uns deshalb keinen Vorwurf machen können, wenn wir vorderhand noch den Standpunkt festhalten, daß es nicht angehe, „Bacillen des malignen Oedems“ zu diagnostizieren, ohne dieser Diagnose die Arbeiten von R. Koch und Gaffky zu Grunde zu legen.

Aus allen diesen Gründen können wir die Bacillen Silberschmidts nicht als solche „des malignen Oedem“ auffassen, daran ändert auch die Tatsache nichts, daß Silberschmidt seine beiden Stämme mit der „Reinkultur des Institutes“ in eingehendster Weise verglichen hat. Wenn sich diese und die beiden neuen vom Menschen gewonnenen Stämme völlig gleich verhielten — wie wohl anzunehmen ist — so ist eben auch diese Reinkultur nicht als eine solche des „malignen Oedems“ anzusehen.

Diesen Standpunkt einzunehmen, fällt uns um so leichter, als es uns durch die genauen Untersuchungsbefunde Silberschmidts ermöglicht ist, die von ihm gefundenen Bacillen einer anderen Gruppe anaërober Bakterien mit großer Wahrscheinlichkeit zuzuteilen, über die wir in den letzten Jahren von Schattenfroh und Grassberger¹⁾ Kenntnis erhielten und über deren Vorkommen beim Menschen P. Albrecht berichtet hat. In seiner Arbeit „Ueber Infektionen mit gasbildenden Bakterien“ teilte P. Albrecht unter anderem 2 Fälle mit, in welchen er anaërobe Bacillen fand, die er als höchst wahrscheinlich identisch hinstellte mit dem von Schattenfroh und Grassberger vorläufig „fäulnisregender Buttersäurebacillus“ genannten Anaërobion. Dieser Meinung schlossen sich auch Schattenfroh und Grassberger selbst an. Diese Bacillen verhielten sich nun sowohl bezüglich des Mangels an Pathogenität bei den gewöhn-

1) Schattenfroh, A. u. Grassberger, R., Neue Beiträge zur Kenntnis der Buttersäuregärungserreger und ihre Beziehungen zum Rauschbrand. (Münch. med. Wochenschr. 1901.)

lichen Versuchstieren als auch bezüglich der Beweglichkeit, Sporenbildung, Gelatineverflüssigung, Peptonisierung der Milch und üblen Geruches fast völlig gleich den von Silberschmidt beschriebenen Bacillen aus der „Gruppe des malignen Oedems“. Auch in den übrigen Eigenschaften — wie reichliche Gasbildung in Zuckeragarkulturen, positive Gramfärbung etc. — sind nennenswerte Differenzen nicht vorhanden. Es liegt daher am allernächsten, die Bacillen Silberschmidts mit den von Schattenfroh und Grassberger und P. Albrecht beschriebenen zu identifizieren, selbstverständlich mit jenem Vorbehalte, den die Behandlung dieses noch wenig erforschten Gebietes in der Bakteriologie erfordert. Diese Bacillen in eine „Gruppe“ mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ zu vereinigen, dazu liegt keine Veranlassung vor, es sei denn, daß man diese Gruppe dann soweit faßte, wie es in Flüggés Werk „Die Mikroorganismen“ geschah, in dem vollständig artverschiedene Bacillen, wie z. B. der „Bac. phlegmon. emphys.“ von E. Fraenkel mit dem R. Kochschen „Bacillus des malignen Oedems“ in eine Gruppe gebracht wurden. Dafür aber haben wir unserer Meinung nach keine stichhaltigen Gründe.

Es sei an dieser Stelle eingeschaltet, daß uns viele Angaben in der Literatur darauf hinzuweisen scheinen, als ob die Autoren vielfach Bakterien, welche diesen „fäulnis-erregenden Buttersäurebacillen“ zugehörigen, als „Bacillus des malignen Oedems“ ansahen oder mit ersteren verunreinigte Kulturen zur Verfügung hatten. So entspricht beispielsweise die von Welch¹⁾ gegebene Darstellung der Merkmale des „Bacillus oedematis maligni“, um diesen von seinem „Bac. aërogenes capsulatus“ (= Bac. phlegmon. emphys. E. Fraenkel) zu unterscheiden, ganz gnt der Beschreibung von Schattenfroh und Grassberger, die sie für ihren „fäulnis-erregenden Buttersäurebacillus“ geben. Namentlich sei hervorgehoben, daß Welch dem „Bacillus des malignen Oedems“ die Erzeugung von fauligem Geruch („foul odor“) zuspricht, sowie die Fähigkeit, das geronnene Kasein zu verflüssigen. Allerdings spräche die Angabe der pathogenen Wirkung bei subkutaner Injektion dagegen, daß Welch etwa Reinkulturen des nicht pathogenen „fäulnis-erregenden Buttersäurebacillus“ in der Hand hatte. Es läge nahe, eine „Mischkultur“ anzunehmen. Andererseits könnte man aber auch die Möglichkeit nicht in Abrede stellen, daß es sich dabei um eine Reinkultur einer besonderen pathogenen Art handelte, die sich kulturell dem „fäulnis-erregenden Buttersäurebacillus“ ähnlich verhielte.

Das Recht, „Bacillen des malignen Oedems“ genannt zu werden, müssen wir übrigens auch diesen Bacillen einräumen — wenn es sich wirklich um Reinkulturen handelte — da sie allen für die genannten Bacillen aufgestellten Anforderungen der Beschreibung Welchs gemäß durch ihre Form, Beweglichkeit, leichte Versporung und Erzeugung von blutigem Oedem mit geringer oder fehlender Gasbildung im Tierkörper nachkommen.

Einer zweiten Gruppe von Arbeiten endlich, in welchen genauere Angaben über den „Bacillus des malignen Oedems“ und über das „maligne Oedem“ gemacht werden, müssen wir die Berechtigung, diese Namen auch gebrauchen zu können, mehr oder weniger voll einräumen.

So ist allerdings im Falle von Brieger und Ehrlich der bakteriologische Befund gewiß ein recht mangelhafter, da nur über die — allerdings positiven — Versuche an Meerschweinchen und Kaninchen ausführlicher berichtet wurde, doch sind wenigstens keine den Befunden von R. Koch und Gaffky widersprechenden Angaben vorhanden. Mit Rücksicht auf die positiven Kaninchenversuche könnte man die Diagnose „malignes Oedem“ in diesem Falle noch gelten lassen, wenn auch der Fall als ein zweifelhafter bezeichnet werden muß.

Für die von W. und R. Hesse, Liborius, Jensen und Sand, Kitasato, Sanfelice, Ringeling, Carl, v. Hibler, Eisen-

1) Welch, Morbid condition caused by the Bacillus aërogenes capsulatus. (Philadelphia med. Journ. Vol. VI. 1900.)

berg, Kitt, Muir und Ritchie, Jensen, Gould und Welch untersuchten Bacillen müssen wir aber die Berechtigung „Bacillus des malignen Oedems“ genannt zu werden, unseren früheren Ausführungen gemäß unbedingt zugeben. Denn diese Bacillen erzeugten bei Tieren ein dem R. Koch-Gaffkyschen Krankheitsbilde mehr oder weniger gleichendes, und zeigten auch in ihrem sonstigen Verhalten im allgemeinen keine Unterschiede gegenüber den von R. Koch und Gaffky für diese Bacillen angegebenen Eigenschaften. Wenn nun trotzdem zwischen den Angaben der zitierten Autoren Widersprüche vorkommen — P. Albrecht ist in seiner Arbeit darauf näher eingegangen — so könnte das darauf beruhen, daß es verschiedene Bacillenarten gebe, die bezüglich ihrer Eigenschaften in den von R. Koch und Gaffky untersuchten Punkten übereinstimmen, sonst aber differieren. Und Jensen spricht auch die Vermutung aus, daß sich „unter der Bezeichnung „Oedembacillus“ wahrscheinlich eine Reihe nahestehender Formen“ verberge.

Die früher hervorgehobene ungenügende Charakterisierung des „Bacillus des malignen Oedems“ hat auf diese Weise den Anlaß dazu gegeben, verschiedene Bakterien unter einem Namen zusammenzufassen. Dabei ist natürlich Voraussetzung, daß die Autoren mit sicheren Reinkulturen gearbeitet haben, und nicht — worauf allerdings in einzelnen Arbeiten manches vermuten läßt — Mischkulturen mit anderen Anaëroben in der Hand hatten.

Wir sind weit davon entfernt, diese sich beim Studium der Literatur ergebende Frage hier entscheiden zu wollen, dazu bedarf es noch weiterer eingehender Untersuchungen über das ganze Gebiet der Anaëroben.

Wenn wir nunmehr zusammenfassend den von uns gezüchteten Bacillus den zwei Bakteriengruppen gegenüberstellen, die wir im vorhergehenden der Uebersicht halber aufgestellt haben, so finden wir, daß von den Bakterien der ersten Gruppe jede einzelne scharf von dem Bacillus unseres Falles abgetrennt werden kann. Wir glauben gezeigt zu haben, daß man die Bacillen dieser Gruppe mit Unrecht den „Bacillen des malignen Oedems“ zugerechnet hat.

Aber auch von den Bacillen der zweiten Gruppe konnten wir auf Grund der vorliegenden Befunde keinen mit voller Sicherheit mit unserem Bacillus identifizieren. Einerseits müssen viele der vorhandenen Untersuchungsbefunde als ungenügend und für eine Identifizierung lückenhaft bezeichnet werden, andererseits finden sich neben übereinstimmenden Merkmalen auch Unterschiede, von denen wir allerdings bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse nicht sagen können, ob sie für eine Artunterscheidung hinreichen oder nicht. Es erscheint uns jedoch nicht unwahrscheinlich, daß manche von den Stämmen dieser Gruppe — so vor allem die Bacillen von Sanfelice, von Eisenberg und von Gould mit unserem Bacillus arteins sein dürften und daß die Unterschiede, die den vorliegenden Befunden gemäß diese Stämme von unserem trennen, sich als bedeutungslos herausstellen werden. Für diese Annahme haben wir durch das Studium unseres Bacillus genug Anhaltspunkte bekommen.

Was endlich die Stellung des unter dem Namen „Vibrion septique (Pasteur)“ in der französischen Literatur beschriebenen Bakterium zu dem „Bacillus des malignen Oedems“ und zu dem von uns gezüchteten

Bacillus betrifft, so haben wir schon darauf hingewiesen, daß bereits R. Koch und Gaffky die Identität beider ausgesprochen haben und daß dieser Anschauung von französischer Seite zugestimmt wurde. In der Tat entsprechen auch die von Pasteur, Joubert und Chamberland angegebenen Eigenschaften des „Vibrium septique“ jenen, die von R. Koch und Gaffky für den „Bacillus des malignen Oedems“ erhoben wurden. Es kann daher sachlich dagegen nichts eingewendet werden, wenn jemand den ersten Namen durch letzteren ersetzen will.

Durch die späteren französischen Autoren — Chauveau und Arloing, Arloing, Roux etc. — haben wir nur recht wenig über das morphologische und kulturelle Verhalten des Pasteurschen „Vibrium septique“ erfahren. Der von Arloing dafür vorgeschlagene Name „Bacillus septicus gangrenae“ hat scheinbar keinen Anklang gefunden und konnte sich nicht einbürgern. Wir können, wenn wir alle diese Arbeiten überblicken, auch nur konstatieren, daß unser Bacillus mit jenen Stämmen in vieler Hinsicht übereinstimmt, daß aber zu einer sicheren Identifizierung die vorliegenden Untersuchungen gleichfalls nicht ausreichen.

Trotz vieler übereinstimmender Merkmale zwischen den als „Bacillen des malignen Oedems“ und als „Vibrium septique“ bezeichneten Bakterien einerseits und dem Bacillus unseres Falles andererseits wären wir also nicht in der Lage, nur auf Grund der Literatur letzteren mit einem der unter den beiden erwähnten Namen beschriebenen Bacillen sicher zu identifizieren, könnten andererseits aber auch keine scharfe Trennung zwischen diesen Bakterien durchführen. Wir stünden demnach vor der Unmöglichkeit, einen sicheren Entscheid treffen zu können, wäre uns nicht durch eine vergleichende Untersuchung unseres Bacillus mit dem Originalstamme des „Vibrium septique“ von Pasteur die Berechtigung gegeben worden, diese beiden Bacillen als identisch ansehen zu dürfen. Und damit sind wir auch zu einem präzisen Schlusse über die Stellung des von uns gezüchteten Bacillus gelangt.

Im Anschlusse an ihre Studien über die Buttersäuregärungserreger befaßten sich Grassberger und Schattenfroh¹⁾ mit vergleichenden Untersuchungen über die „Bacillen des malignen Oedems“ und benützten dazu 4 Stämme, darunter den Originalstamm des „Vibrium septique“ von Pasteur²⁾ und den von uns gezüchteten Stamm, welchen wir den beiden genannten Autoren, nachdem unsere Untersuchungen ihrer Hauptsache nach abgeschlossen waren, überlassen hatten. Soweit aus der veröffentlichten kurzen Mitteilung ersichtlich ist, kamen Grassberger und Schattenfroh bei ihren Untersuchungen zu Resultaten, die sich fast vollständig mit den Ergebnissen unserer Untersuchungen decken.

Auf Grund dieser vergleichenden Untersuchungen von Grassberger und Schattenfroh ist der von uns isolierte Bacillus als identisch anzusehen mit dem „Vibrium septique“ von Pasteur. Da nun von R. Koch selbst die

1) Grassberger, R. u. Schattenfroh, A., Ueber den Bacillus des malignen Oedems (Vibrium septique). (Münch. med. Wochenschr. 1902.)

2) Anmerkung: Die Herren Grassberger und Schattenfroh hatten die Güte, uns mitzuteilen, der erwähnte Stamm des „Vibrio septique“ sei den Herren von Prof. Metschnikoff übersendet worden mit der Angabe, daß es sich um den Originalstamm Pasteurs handle, der seit seiner Isolierung im Institut Pasteur fortgezüchtet werde.

Identität des „Vibrion septique“ von Pasteur mit seinem „Bacillus des malignen Oedems“ ausgesprochen und dagegen keinerlei Einsprache erhoben wurde, stehen wir nicht an, den Bacillus unseres Falles, ohne Rücksicht auf die mit manchen Literaturangaben bestehenden Widersprüche — „Bacillus des malignen Oedems“ zu nennen.

In Anbetracht des Umstandes, daß eingehendere Untersuchungen über einen authentischen Stamm dieses Bacillus bisher nicht vorhanden waren, der von uns aus dem Menschen isolierte Stamm aber den heute zu stellenden Anforderungen entsprechend genau untersucht wurde und als Erreger einer so schrecklichen Krankheit beim Menschen gewiß volle Aufmerksamkeit verdient, möchten wir uns den Vorschlag erlauben, den Bacillus unseres Falles als Repräsentanten jener Bakterienart anzusehen, die R. Koch „Bacillus des malignen Oedems“ genannt hat. Die grundlegenden Untersuchungen von Pasteur und R. Koch erfuhren durch unsere Befunde gewissermaßen eine Ergänzung und damit wäre auch ein Grundstock gegeben zu dem weiteren Ausbau der so arg verfahrenen Lehre über den „Bacillus des malignen Oedems“ und die ihm nahestehenden anaëroben Bacillen.

Die Tatsache, daß der von uns gezüchtete Bacillus mit dem Originalstamm des „Vibrion septique“ von Pasteur identifiziert wurde, daß unser Bacillus demnach ein echter „Bacillus des malignen Oedems“ sei, enthebt uns eigentlich davon, noch andere bewegliche anaërobe Bakterienformen in den Kreis unserer vergleichenden Betrachtungen zu ziehen. Nichtsdestoweniger erachten wir es nicht für überflüssig, im Anschlusse an unsere vorhergehenden Auseinandersetzungen noch kurz auf einige Arbeiten einzugehen, deren Kenntnis mehr oder weniger innig verknüpft erscheint mit der Aetiologie des „malignen Oedems“.

In erster Linie wäre hier die Arbeit von Wicklein¹⁾ zu nennen, der in drei Fällen von Gasgangrän einen beweglichen anaëroben Bacillus als Erreger gefunden hat, den er vom „Bacillus des malignen Oedems“ differenziert. Der letzte dieser 3 Fälle ist ungenau untersucht und deshalb nicht gut verwertbar, in den beiden anderen Fällen aber konnte Wicklein einen obligat anaëroben, beweglichen Bacillus reinzüchten, der sich allein in den veränderten Geweben vorfand und der sich — Wicklein betont dies ausdrücklich — in beiden Fällen morphologisch und kulturell völlig gleich verhielt. Die Bacillen fanden sich im Gewebssaft einzeln oder in kürzeren, gegliederten Verbänden gelagert, hatten abgerundete Enden und keine Sporen. Letztere ließen sich jedoch im Tierkörper und in alkalischen Nährböden nachweisen. In Gelatine, Agar und erstarrtem Blutserum erfolgte Gasbildung mit Entwicklung eines säuerlichen, an Käse oder ranzige Butter erinnernden Geruches. Die Gasentwicklung wurde intensiver, wenn den Nährböden Traubenzucker zugesetzt worden war. Zusatz von Milchsäure oder milchsauren Salzen verzögerte das Wachstum der Bacillen. In Bouillon erfolgte Trübung, später Klärung der Flüssigkeit mit Bildung

1) Wicklein, E., Drei Fälle von Gasgangrän. (Virchows Archiv. Bd. CLXXV. 1891.)

eines reichlicheren Bodensatzes. In Gelatine entstanden Kolonien, die über Hirsekorngröße erreichten, ein opakeres Zentrum und eine feingestrichelte Peripherie zeigten, Gas entwickelten und den Nährboden langsam verflüssigten. In Agar erfolgte raschere Gasbildung mit Zerkümmerung des Nährbodens und diffuse Trübung desselben. In erstarrtem Blutserum zeigte sich gleichfalls eine diffuse Trübung mit Gasbildung und teilweiser Lösung.

Mit dem Muskelsafte vom ersten Falle wurden 4 Kaninchen, 2 Meerschweinchen und 2 weiße Ratten geimpft. Davon erkrankten vorübergehend nur die Meerschweinchen. Die übrigen Tiere reagierten nicht, ebenso nicht die Tiere — je 2 Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Ratten — die mit einer Aufschwemmung getrockneter Muskelstücke geimpft wurden.

Mit dem Muskelsafte vom zweiten Falle wurden gleichfalls mehrere Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Ratten geimpft. Davon reagierten wieder nur die Meerschweinchen, doch verendeten von den 3 geimpften 2 (nach 16 und 24 Stunden). Bei beiden Tieren ergab die Sektion von Gasbläschen durchsetztes Oedem des subkutanen und intramuskulären Zellgewebes sowie Hyperämie der Brust- und Baueingeweide. Mit dem getrockneten Muskelfleische wurden später noch zahlreiche Tierimpfungen vorgenommen — je 1 Pferd, Rind, Hund, 4 Schafe, je 10 Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Ratten. Davon erkrankten wieder nur die Meerschweinchen und verendeten mit demselben Befunde wie die erstgeimpften. Mit der Oedemflüssigkeit der gefallenen Meerschweinchen wurden dann nochmals die erwähnten Tierarten geimpft, gleichfalls ohne Erfolg. Negativ blieben auch die mit den Kulturen an den genannten Tierarten ausgeführten Impfungen, während sie für Meerschweinchen höchst virulent waren. Nur Mäuse erwiesen sich noch als empfänglich, von denen die Hälfte nach subkutaner Impfung mit dem gleichen Befunde wie die Meerschweinchen eingingen.

Wicklein selbst identifiziert seine Stämme nicht mit dem „Bacillus des malignen Oedems“, sondern bezeichnet sie als eine andere, allerdings diesem nahestehende Art, der er den Namen „Bacillus emphysematis maligni“ zu geben vorschlägt.

Die Artverschiedenheit gegenüber dem „Bacillus oedematis maligni“ begründet Wicklein vorwiegend durch das tierpathogene Verhalten seiner Stämme. Dabei war die Abnahme der Virulenz in den Kulturen eine rasche und blieb nur bei häufigen Ueberimpfungen erhalten.

Leider sind auch die Untersuchungen Wickleins nicht erschöpfende und entbehren der Angabe über einige gerade für den Vergleich wichtige Merkmale, so daß es eigentlich ungerechtfertigt erschiene, ein sicheres Urteil über den Bacillus von Wicklein zu fällen.

Wenn es sich auch durch andere Untersuchungen in Uebereinstimmung mit Grassberger und Schattenfroh und unseren Resultaten immer wieder bestätigen sollte, daß dem „echten“ Bacillus des malignen Oedems die Fähigkeit, koaguliertes Eiweiß zu lösen, mangle, so handelte es sich bei den beiden Wickleinschen Stämmen tatsächlich nicht um „Bacillen des malignen Oedems“. Denn diese beiden Stämme lösten koaguliertes Eiweiß.

Die Stämme von Wicklein sonstwo unterzubringen, fiel uns schwer. Es besteht dafür unserer Ansicht nach auch keine Notwendig-

keit, solange wir nicht über besser fundierte Untersuchungen auf diesem Gebiete verfügen¹⁾).

Mit dem „*Bacillus emphysematis maligni*“ von Wicklein identifizierte v. Hibler seinen Stamm No. IX. Ob v. Hibler dazu berechtigt war, lassen wir dahingestellt. Schon bei der Besprechung der 3 Stämme von „*Bacillen des malignen Oedems*“, die v. Hibler zu untersuchen Gelegenheit hatte, verwiesen wir auf den Mangel der Angabe über die Beweglichkeit in den Befunden v. Hibleers. Noch fühlbarer wird dieser Mangel bei der Beurteilung der anderen anaëroben Stämme v. Hibleers, der Stämme V, VI, VII, VIII, XI und XII. Doch läßt sich — falls es sich bei allen diesen Stämmen um bewegliche *Bacillen* gehandelt hatte — aus den vorliegenden Befunden v. Hibleers mit Bestimmtheit sagen, daß sich alle diese Stämme von dem „*Bacillus des malignen Oedems*“ unterscheiden, was ja v. Hibler selbst hervorhebt. Von diesen Stämmen entstammten V und VII der Erde, VI dem Herzblute eines an Milzbrand verendeten Rindes, VIII einem Tetanusmateriale, IX, XI und XII dem Menschen. Von den 3 letztgenannten

1) Anmerkung (bei der Korrektur): Inzwischen ist die dritte Abhandlung über die Buttersäuregärung von Grassberger und Schattenfroh erschienen (Archiv f. Hygiene. Bd. XLVIII). In dieser ausführlichen Arbeit behandeln die beiden Autoren die Morphologie und das chemisch-biologische Verhalten des Rauchbrandbacillus und des Oedembacillus. Aus der interessantesten Arbeit sei hier hervorgehoben, daß die beiden Autoren darin dem „*Bacillus des malignen Oedems*“ bezüglich der Zersetzungen der Eiweißkörper in den Kulturen eine „merkwürdige Labilität“ zuschreiben, welche „ihn gelegentlich befähigt, das Eiweiß unter Bildung stinkender Fäulnisprodukte abzubauen, während unter anderen Umständen nur geringfügige Zersetzungen ersichtlich werden, in vielen Fällen solche überhaupt zu fehlen scheinen“. Und bezüglich des Verhaltens in der Milch sagen die beiden Autoren folgendes: „Sät man Oedembacillen in Milch aus, so verläuft, wenn überhaupt Wachstum eintritt, die Zersetzung gewöhnlich so, daß nach zwei bis mehreren Tagen unter wechselnder Gasbildung und bei gleichzeitiger Säuerung des Nährbodens das Kasein in klumpiger Form, häufig von Gasblasen durchsetzt, ausgeschieden wird. Ist dieser Zustand einmal erreicht, so wird niemals das Kasein-Koagulum wieder vollständig in Lösung gebracht, auch dann nicht, wenn die Kultur einen deutlichen Fäulnisgeruch aufweist (hierbei erfolgt gelegentlich partielle Lösung, siehe Protokoll) oder das Wachstum in Milch erfolgt derart, daß der Käsestoff von vornherein, ohne koaguliert zu werden, der Peptonisierung anheimfällt. In solchen Fällen fehlt die sichtbare Gasentwicklung und ein starker Fäulnisgeruch macht sich bemerkbar.“

Und schließlich sei noch bemerkt, daß die beiden Autoren bezüglich des Verhaltens des Oedembacillus in erstarrtem Rinderserum nunmehr auch Peptonisierung des Koagulums — wenn auch in sehr seltenen Fällen — beobachtet haben.

Grassberger und Schattenfroh haben ihre Untersuchungen mit 4 Stämmen durchgeführt, dem Originalstamm Pasteurs (*Vibrio septique*), unserem Stamm, einem aus der Erde isolierten Stamm (= „*Oedembacillus I*“) und einem Stamm, der aus der Peritonealflüssigkeit eines an Kolik gefallenen Pferdes gezüchtet worden war (= „*Oedembacillus II*“).

Wir selbst hatten niemals Gelegenheit, in Milchkulturen bei unserem Stamme sichere Gasbildung zu beobachten. Ebensovienig beobachteten wir je Fäulnisgeruch, weder in dem untersuchten Falle noch bei den zahlreichen Tierexperimenten noch auch in den vielen Kulturen. Und in den von uns gemachten Versuchen mangelte unserem *Bacillus* die Fähigkeit, koaguliertes Eiweiß zu lösen.

Den der Arbeit von Grassberger und Schattenfroh angeschlossenen Tabellen entnehmen wir, daß von den Autoren die Wahrnehmung von Fäulnisprodukten immer nur bei den Oedembacillen I und II vermerkt wurden.

Es erschien uns deshalb wichtig, gerade nach diesen Richtungen hin weitere vergleichende Untersuchungen anzustellen, damit sichergestellt werde, ob die einzelnen Stämme des „*Bacillus oedematis maligni*“ häufig ein so variables Verhalten zeigen oder ob sich vielmehr die Notwendigkeit herausstellen dürfte, in der „Gruppe“ des malignen Oedembacillus mehrere Arten voneinander abzutrennen. Im ersteren Falle wäre dann gegen die Identifizierung des *Bacillus* von Wicklein mit dem „*Bacillus des malignen Oedems*“ nichts mehr einzuwenden.

war IX der Erreger einer Gasgangrän im Anschlusse an eine komplizierte Fraktur des linken Radius, die Stämme XI und XII fanden sich in dem emphysematösen und nekrotischen Gewebe des Vorderarmes eines Knaben bzw. jungen Mannes, gleichfalls im Anschlusse von schweren Verletzungen, und waren nicht pathogen.

Der beiden Stämme III und IV von P. Albrecht haben wir schon Erwähnung getan; sie wurden von P. Albrecht selbst als auch von Grassberger und Schattenfroh als den „fäulnisregenden Buttersäurebacillen“ zugehörig angesehen. Es sei hier nur hervorgehoben, daß Stamm III dem Wundsekrete einer Frau entstammte, die 5 Tage nach einer Mammaamputation unter Mattigkeit und geringem Wundschmerz Steigerung der Pulsfrequenz und Erhöhung der Temperatur bis 38,9° zeigte. Und Stamm IV fand sich im Wundsekrete eines Mannes, dem die linke Niere entfernt worden war, neben *Staphylococcus pyogenes* (albus). Das Wundsekret war grünlichgelb, stinkend und mit Gasblasen vermischt.

Beide Stämme P. Albrechts erwiesen sich als untereinander identisch, stellten bewegliche anaerobe Bacillen dar, waren in jungen Kulturen Gram-positiv, ließen Sporen nachweisen, bildeten auf der Agarplatte zarte Oberflächenkolonien, erzeugten bei 37° in zuckerhaltigen Nährböden stürmisch Gas, verflüssigten Gelatine bei 20° ziemlich rasch (vollständige Verflüssigung des Nährbodens in 3 Tagen) und koagulierten die Milch unter Gasbildung, wobei das Kasein dann unter Bildung eines penetranten, fauligen Gestankes teilweise gelöst wurde. Beide Stämme waren für Meerschweinchen und Kaninchen nicht pathogen.

Recht wichtig erscheint uns auch die Beobachtung von Stolz¹⁾, die eine komplizierte Fraktur des linken Beines bei einem 5-jährigen Kinde betraf. Schon in vivo trat Gasknistern auf und 58 Stunden nach der Verletzung erfolgte der Tod. Die 12 Stunden post mortem ausgeführte Sektion ergab das typische Bild der „Gasphlegmone“. Eiterige Infiltration war nirgends nachweisbar. Zwei Meerschweinchen, die mit stark beschmutzten Gewebsetsen geimpft waren, verendeten innerhalb 24 Stunden und zeigten bei der Sektion ein hämorrhagisch-emphysematöses Oedem, welches sich über die ganze Bauchseite ausgebreitet hatte. Kulturen wurden von den Tieren weg nicht angelegt. Deckglaspräparate zeigten bewegliche Bacillen, die sich nach Gram zum größten Teile anfärbten.

Die kulturelle Untersuchung des Falles ergab neben *Staphylococcus pyogenes albus* und *aureus* und großen *Torula*-Formen eine bewegliche anaerobe Bacillenart mit folgenden Charakteren²⁾:

Der Bacillus stellte ein gleichmäßig dickes Stäbchen dar, hatte abgerundete Enden, lag einzeln, zu zweit oder in kettenförmigen Verbänden. In alten Kulturen verlor er sein normales Aussehen. Er bildete Verzweigungen. Nie erfolgte Sporenbildung in den gewöhnlichen Nährböden, wohl aber in alkalischem Stärkeagar, in dem auch Granulosebildung nachweisbar war. Der Bacillus ließ lebhafte Eigenbewegung erkennen, die durch peritriche, meist in der Zahl von 2 nachweisbare Geißeln bedingt war. Er färbte sich leicht und verhielt sich der Gramschen Methode gegenüber ungleich. In ganz jungen Kulturen

1) Stolz, A., Die Gasphlegmone des Menschen. (Beiträge zur klinischen Chirurgie. 1902.)

2) Die Reinkultivierung des anaeroben Bacillus gelang durch Verwendung der Kulturmethode in hoher Schicht mit Verdünnungen. Plattenkulturen mißlangen.

bildeten Gram positive Formen die Mehrzahl. Wachstum erfolgte bei Körper- und Zimmertemperatur, rascher bei ersterer. Das Wachstum des Bacillus gestaltete sich besser, wenn Traubenzucker den Nährböden zugesetzt worden war. Das Gasbildung war eine ziemlich lebhafte und erfolgte auch in der Gelatine, die niemals verflüssigt wurde. In Bouillon zeigte sich nur spärliche Entwicklung, reichlicher in Traubenzuckerbouillon. Gutes Wachstum mit Gasbildung erfolgte auch in Glycerinagar. Milch gerann innerhalb 24—48 Stunden. Der Bacillus vergor leicht Traubenzucker, Lävulose und Milchzucker, jedoch nicht Rohrzucker, der das Wachstum beeinträchtigte. Bei der Vergärung 2-proz. Traubenzuckerbouillon entstanden Milch- und Buttersäure. Das gebildete Gas bestand hauptsächlich aus Wasserstoff und Kohlensäure (2 : 1).

Mit der 3. Generation angestellte Tierversuche ergaben: Meerschweinchen, subkutan mit 1—3 ccm 24-stündiger Kultur geimpft, zeigten lokale Infiltration ohne Gasentwicklung, die rasch zurückging. Kaninchen und weiße Mäuse reagierten auf subkutane und intravenöse Einverleibung nicht nennenswert.

Stolz bezeichnete den von ihm isolierten anaëroben Bacillus als Ursache der Erkrankung — ob mit Recht oder Unrecht wollen wir nicht entscheiden — und identifizierte denselben mit dem „Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens Grassberger und Schattenfroh. Soweit die Untersuchungen von Stolz ausgeführt sind, besteht allerdings eine große Uebereinstimmung des Bacillus von Stolz mit dem „beweglichen Buttersäurebacillus“ von Grassberger und Schattenfroh und man kann füglich nicht viel dagegen einwenden, wenn beide identifiziert werden. Unserer Meinung nach unberechtigt ist es jedoch, wenn Stolz den von ihm isolierten Bacillus ohne weiteres mit jenem identifiziert, den Wicklein als „Bacillus emphysematis maligni“ beschrieb. Wir verweisen auf die Beschreibung von Wicklein, der zufolge seine beiden Stämme Gelatine langsam verflüssigten, während der Bacillus von Stolz dies nie tat. Auch von Grassberger und Schattenfroh wurde dem von ihnen beschriebenen beweglichen Buttersäurebacillus die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, abgesprochen. Die Befunde der beiden letztgenannten Autoren sind um so gewichtiger, als sie die Untersuchungen einer größeren Anzahl von Stämmen dieser Bacillenart zur Grundlage hatten und der Mangel der Gelatineverflüssigung deshalb wohl als eine charakteristische Eigenschaft ihres beweglichen Buttersäurebacillus anzusehen ist. Will Stolz die Identität seines Bacillus mit dem „beweglichen Buttersäurebacillus“ aufrecht erhalten, so kann derselbe nicht gleichzeitig auch mit dem Wickleinschen Bacillus identisch sein.

Auffallend ist für den Bacillus von Stolz auch wieder die Tatsache, daß derselbe in Reinkulturen keine pathogenen Eigenschaften zeigte, wohl aber angeblich im stande war, den schweren tödlichen Prozeß beim Menschen zu erzeugen und Meerschweinchen im Originalsekrete rasch unter Bildung eines ausgebreiteten hämorrhagisch-emphysematösen Oedems zu töten. Jedenfalls erschien diese Tatsache auch Stolz selbst merkwürdig genug, da er seine Meinung, daß der von ihm isolierte Bacillus als Erreger des Prozesses anzusehen sei, entsprechend zu rechtfertigen sucht.

Das von Rodella¹⁾ beschriebene Anaërobion No. I, neben anderen

1) Rodella, A., Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1903.)

Bakterien aus einem gashaltigen Abscesse beim Menschen isoliert, hat mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ gleichfalls nichts zu tun. Rodella identifiziert die beiden auch nicht miteinander. Es war beweglich und Gram-positiv, bildete Sporen, verflüssigte Gelatine und Serum unter Gasbildung, peptonisierte die koagulierte Milch und erzeugte in den Kulturen einen üblen Geruch. Diesen seinen Eigenschaften nach könnte man den Bacillus von Rodella gleichfalls am besten den „fäulnisserregenden Buttersäurebacillen“ zuteilen.

Schon aus diesen im vorhergehenden angeführten Beobachtungen können wir ersehen, daß wir heute noch nicht über eine entsprechende Einteilung der anaëroben Bacillen verfügen, um auch nur die beim Menschen beobachteten Formen unterzubringen. Der Grund dafür liegt unserer Meinung nach nicht in letzter Linie darin, daß viele der mitgeteilten Beobachtungen ungenau sind.

Es erwächst deshalb für uns die Aufgabe, durch eingehendste Beobachtungen einschlägiger Fälle sowohl beim Menschen als auch bei Tieren zunächst festzustellen, wie viele und welche Arten beweglicher anaërober Bacillen, die morphologisch und kulturell Aehnlichkeiten mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ zeigen, überhaupt und welche davon als Parasiten, welche als Saprophyten in Betracht kämen. Es wäre ferner wünschenswert, diejenigen Bacillenformen dieser Gruppe bzw. verwandter Gruppen, die beim Menschen gefunden wurden — soweit sie noch erhältlich sind — durch systematisch ausgeführte, vergleichende Untersuchungen im Sinne von Grassberger und Schattenfroh zu studieren, um darüber sicheren Aufschluß zu erhalten, welche davon untereinander zu identifizieren seien.

Vorderhand scheint es uns angezeigt zu sein, alle jene Beobachtungen, die Lücken aufweisen und Zweifel aufkommen lassen, vorsichtig zu beurteilen und ihnen gegenüber lieber ein abwartendes Urteil an den Tag zu legen, als daraus Fehlschlüsse zu ziehen.

Im vorhergehenden besprachen wir eingehender die Stellung des in unserem Falle gefundenen Anaërobion zu den als „Bacillen des malignen Oedems“ in der Literatur geltenden Bakterien sowie sein Verhältnis zu einigen anderen bislang bekannt gewordenen beweglichen anaëroben Bacillen.

Es erübrigt nunmehr noch, etwas näher auf die pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen unseres Falles einzugehen sowie den Standpunkt zu erörtern, welchen wir auf Grund dieser Veränderungen über das Wesen des Krankheitsprozesses und über die zu wählende Benennung desselben einzunehmen uns für berechtigt halten.

Ueberblicken wir zunächst nochmals die grob-anatomischen Veränderungen, die wir an unserem Falle 8 Stunden nach dem Tode vorfinden konnten, so fiel vor allem die bläulich-rote Färbung der Haut auf, die wir im Bereiche der unteren Rückenpartie, der rechten Glutäal- und Lumbalgegend, der Hinterfläche des rechten Oberschenkels sowie des oberen Drittels des rechten Unterschenkels sehen konnten.

Die Epidermis war an diesen Partien oft in größerer Ausdehnung fehlend oder fetzenartig abgelöst oder aber in Form kleinerer oder größerer Blasen abgehoben. Diese Blasen waren mit serös-hämorrhagi-

scher Flüssigkeit erfüllt. Solche Flüssigkeit, untermengt mit kleineren Gasbläschen, floß reichlich auch von der Schnittfläche dieser Hautpartieen ab. Dabei war das Unterhautbinde- und Fettgewebe gleichfalls durchfeuchtet und rötlich, reichlichst von Gasblasen durchsetzt, desgleichen die Muskulatur, die wie gekocht aussah, neben dunkler gefärbten auch lichtere Stellen zeigte, vielfach hämorrhagisch infiltriert erschien und einen ziemlich scharfen, säuerlichen Geruch verbreitete. Auch in den Gefäßen dieser so veränderten Körperpartieen fanden sich Gasblasen. In der Umgebung dieser Partieen, die auch schon während des Lebens ähnliche Veränderungen gezeigt hatten, war die Haut dagegen blaß, das Unterhautbinde- und Fettgewebe ohne auffallende seröse Durchtränkung, die Muskulatur trocken. Die Gasbildung beschränkte sich peripherwärts nur mehr auf das Unterhautbinde- und Fettgewebe. Eiterung war nirgends nachweisbar.

Derartige Krankheitsprozesse sind seit langem schon bekannt und verschiedene Namen wurden denselben von den einzelnen Beobachtern beigelegt. Wenn auch eine Anzahl dieser Benennungen dafür zeugen, daß vieles von dem Wesen dieser Krankheitsprozesse richtig gedeutet oder erkannt wurde, so ist doch klar, daß eine richtige Auffassung derselben erst durch die Kenntnis ihrer Aetiologie ermöglicht wurde.

Es erscheint uns deshalb überflüssig, an dieser Stelle die historische Seite dieser Prozesse des langen und breiten zu erörtern. Wir verweisen in dieser Hinsicht auf die erschöpfende Darstellung in der Arbeit von Hitschmann und Lindenthal¹⁾ und auf das zusammenfassende Referat von Sandler²⁾.

Aber auch von den schon bakteriologisch untersuchten Fällen sind nicht alle als gleichwertig für das Verständnis dieser Prozesse anzusehen, weil einerseits viele derselben nur unvollkommen untersucht sind und weil andererseits bei anderen der Umstand nicht entsprechende Berücksichtigung gefunden hat, ob der Prozeß eine Reininfektion oder aber eine Mischinfektion mit noch anderen pathogenen Bakterien darstellte. Und daß gerade dieser Umstand heute bei der Beurteilung unserer Krankheitsprozesse oft von großer Bedeutung ist, dürfte wohl kaum mehr in Abrede gestellt werden.

Wenn wir mit Rücksicht auf diese Tatsache bei unseren weiteren Auseinandersetzungen ausschließlich die Reininfektionen in Betracht ziehen, so finden wir, daß Krankheitsprozesse — in ihrem pathologisch-anatomischen Bilde und in ihrem klinischen Verlaufe fast oder völlig gleich dem unserigen — wiederholt bereits beschrieben wurden, daß aber nicht in allen diesen Beobachtungen ein und derselbe Krankheitserreger nachgewiesen werden konnte, daß also die Aetiologie dieser Prozesse eine verschiedene sei.

So beschreibt z. B. Wicklein³⁾ die Veränderungen des zweiten seiner 3 Fälle, eine Maschinenverletzung der linken oberen Extremität, wie folgt:

„Große, kräftige Leiche. Am linken Vorderarme in der Nähe des Handgelenkes einige größere Hautwunden. Die linke obere Extremität geschwollen und grünbraun

1) Hitschmann, F. und Lindenthal, O. Th., Ueber die Gangrän foudroyante. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1899.)

2) Sandler, A., Ueber Gasgangrän und Schaumorgane. (Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1902.)

3) l. c.

verfärbt, beim Zufühlen knisternd. Die Epidermis erscheint an vielen Stellen durch braunrote Flüssigkeit bläsig abgehoben, jedoch, abgesehen von der diffusen Schwellung der Extremität, ohne wahrnehmbare Reaktion in der Umgebung. An anderen Stellen ist die Epidermis abgefallen. Die gleichen Veränderungen an der linken Schulter und an der linken Seite der Brust. Dieselben erstrecken sich sodann, allmählich abnehmend, über die rechte Seite der Brust und über die Bauchgegend bis zu den Hüften, zugleich auch über den rechten Oberarm. Das Scrotum ist blasenförmig aufgetrieben und entleert beim Einschneiden eine reichliche Menge übelriechenden Gases. Die Weichteile der Brust und der oberen Hälfte der Bauchdecken sind vielfach von Blutungen durchsetzt und enthalten reichliches Gas. Die Muskulatur ist an diesen Stellen stark trübe bei kräftiger Entwicklung. Die Weichteile der linken oberen Extremität zeigen unmittelbar unter der Haut ausgiebige Blutaustritte; spärlich sind letztere in der Muskulatur, welche intensiv trübe und ebenso, wie das Fettgewebe, von Gasblasen durchsetzt ist. Die Muskulatur erscheint dabei ziemlich trocken. Das linke Schultergelenk, abgesehen von blutiger Imbibition der Synovialis und des Knorpels, unverändert. Das linke Hand- und linke Ellenbogengelenk verhalten sich wie das Schultergelenk. Die Knochen der oberen Extremität zeigen keine Kontinuitätstrennungen. In der Gegend des Olekranon ein ausgiebiger Bluterguß in der Muskulatur und im Periost.

Auch das Zellgewebe des vorderen Mediastinums von Gasblasen durchsetzt und blutig imbibiert.“

Und E. Fraenkel¹⁾ beschreibt einen im Jahre 1900 beobachteten Fall — eine Verletzung durch einen elektrischen Straßenbahnwagen mit nachfolgender Amputation — in folgender Weise:

„Die Sektion ergibt Fehlen des rechten Unterschenkels und des unteren Drittels des Oberschenkels. Quer über das Ende des Stumpfes verläuft in frontaler Richtung eine 18 cm messende, vernähte Operationswunde. Die Haut an der Vorderseite des Oberschenkelstumpfes bis zur Unterbauchgegend grünlich gefärbt, die Oberhaut teils bläsig abgehoben, teils in Fetzen gelöst. Bei Druck auf diese Partien fühlt man, besonders an der Innenseite des Stumpfes, deutliches Knistern. Beim Einschneiden entleert sich sowohl aus dem schmierigen, gelblich gefärbten Unterhaut- als Zwischenmuskulgewebe von feinsten Luftbläschen durchsetzte, trübe Flüssigkeit. Das Muskelgewebe erscheint trübe, brüchig.“

Wir haben aus der Literatur, die zahlreiche analoge Fälle aufweist, als Beispiele die zwei oben beschriebenen hervorgehoben, weil sie die zuvor erwähnte Tatsache der verschiedenen Aetiologie in ihren pathologisch-anatomischen Veränderungen gleichartiger Prozesse trefflich illustrieren. Denn von den beiden oben angeführten Beispielen war der erste Fall durch ein bewegliches anaërobes Stäbchen bedingt, welches Wicklein als *Bacillus emphysematis maligni* bezeichnet wissen wollte, während der zweite ein unbewegliches, allerdings auch anaërobes Bakterium als seinen Erreger erkennen ließ, der von E. Fraenkel *Bacillus phlegmones emphysematosae* genannt wurde. Es erscheint dabei hier völlig belanglos, welche Stellung im Bakteriensystem die beiden genannten Bacillenformen einnehmen. Von Wichtigkeit für uns ist an dieser Stelle nur die Tatsache, daß die genannten beiden Bakterienformen — abgesehen von dem Umstande, daß sie als sogenannte obligate anaërobe Bakterien eine gewisse Zusammengehörigkeit erkennen lassen — miteinander nichts gemein haben, sondern als zwei völlig differente Arten angesehen werden müssen, ebenso verschieden voneinander, wie es z. B. der *Bac. coli communis* (Escherich) und der *Bac. pneumoniae* (Friedländer) sind.

Wir sehen also, daß zwei verschiedene Bakterienarten einen in seinen pathologisch-anatomischen Veränderungen gleichen Prozeß erzeugen können, einen Prozeß, der gemeinlich als *Gangrène foudroyante* bezeichnet wird.

1) Fraenkel, E., Ueber Gasphlegmone, Schaumorgane und deren Erreger. (Zeitschr. f. Hyg. 1902.)

droyante, Gasgangrän, Gasphlegmone, Gasbrand etc. bezeichnet wird und dessen beste Beschreibung uns Hitschmann und Lindenthal in ihrer Arbeit über Gangrène foudroyante gaben. Sie lautet:

„Die erkrankte Partie selbst, z. B. eine Extremität, bietet in ausgesprochenen Fällen folgendes Bild: Auf mehr oder minder weite Strecken ist dieselbe hochgradig verändert, sehr lebhaft an das Aussehen fauler Leichteile erinnernd. Die Haut ist im Bereiche der kranken Extremität zumeist bleigrau bis dunkelgrau, manchmal auch mit einem Stiche ins Grüne; die Epidermis ist häufig in Form von Blasen, die mit einer dunkelbraunroten Flüssigkeit gefüllt sind, abgehoben oder sie hängt in Fetzen herab und fehlt dann auf mehr oder minder weite Strecken . . .

Die subkutanen Venen scheinen als dunkle Stränge durch. Wo die Epidermis fehlt, ist das Corium bald vertrocknet, braun, pergamentartig, oder es ergießt sich darüber eine serös-hämorrhagische Flüssigkeit. Die Haut ist von ihrer Unterlage durch Gas und Flüssigkeit abgehoben und man hat beim Tasten das Gefühl, als ob man ein Luftkissen palpieren oder Schnee zusammenpressen würde. Schneidet man ein, so entweicht das Gas und es entleert sich daneben eine geruchlose oder mehr oder minder deutlich sauer riechende, an ranzige Butter erinnernde, licht bis dunkelbraun gefärbte, seröse Flüssigkeit. Ueberall, wo sich lockeres, interstitielles Gewebe befindet, ist Gas und Flüssigkeit am reichlichsten vorhanden.

Die Muskulatur ist in ihrer Farbe ebenso wie in ihrer Konsistenz verändert, zumeist ist sie braun, manchmal, wie in unserem Falle II, dunkelbraun, ein anderes Mal ist sie lichtgelb, lehmgelb, wie gekocht aussehend, dabei ist sie morsch und brüchig, oft zunderartig zerfallend; oder sie ist sehr stark durchfeuchtet, dann ist sie aber auch nicht morsch und brüchig, sondern matsch bis zerfließend. Mit der Konsistenz geht Hand in Hand die Gasbildung. Die Muskeln sind ebenso wie die anderen Gewebe von zumeist kleinen Gasblasen durchsetzt; sind die letzteren sehr reichlich vorhanden, so pflegt die Muskulatur lehmgelb oder wie gekocht auszusehen und trocken zu sein. Auch sonst scheint zwischen Flüssigkeitsmenge und Gasbildung ein gewisses Verhältnis zu bestehen . . .

Fast überall sind Blutungen vorhanden.

Diese Veränderungen beschränken sich bald auf die von der Verletzung getroffene Extremität, bald reichen sie bis an den Stamm hinauf. Am weitesten dringt die Gasbildung vor.“

Es wäre unrichtig, wollte man aus den angeführten Beispielen oder ähnlichen in der Literatur beschriebenen Fällen — immer **Reininfektionen vorausgesetzt** — kleine, unwesentliche Differenzen in den Beschreibungen herausgreifen und diese eventuell als Unterscheidungsmerkmale zwischen den einzelnen Infektionen verschiedener Aetiologie aufstellen: So z. B., daß die Haut im Bereiche der veränderten Partien das eine Mal als bläulich oder bläulichrot, das andere Mal als grau oder grünlich aussehend beschrieben wird, daß ferner die serös-hämorrhagische Durchtränkung und die Gasbildung bald stärker, bald wieder weniger stark ausgeprägt gefunden wurde oder daß endlich der Geruch das eine Mal als übelriechend oder gar stinkend, ein anderes Mal hingegen als ranzig oder unangenehm sauer geschildert wird etc. Solche Differenzen in den Angaben entspringen sicherlich in vielen Fällen subjektiven Anschauungen bzw. Empfindungen und müssen schon deshalb als mehr oder minder belanglos betrachtet werden, als es schon aus der Arbeit von Hitschmann und Lindenthal unzweifelhaft hervorgeht, daß ein und dasselbe Virus — H. und L. hatten ätiologisch einheitliche Infektionen — gewisse Verschiedenheiten im pathologisch-anatomischen Bilde zu erzeugen im stande sei.

Außerdem ist aber besonders hervorzuheben, daß auch die Eigenart des von dem Krankheitserreger betroffenen Gewebes bzw. Organes für die dadurch bedingten Veränderungen nicht ohne Belang ist. Wir sehen dies bei anderen uns häufiger entgegentretenden Infektionen, wir sehen dies aber auch bei den hier in Frage kommenden Prozessen. Besonders

lehrreich in dieser Beziehung scheint uns der Fall VII von Hitschmann und Lindenthal zu sein, bei dem es sich um eine eiterige Meningitis an der Konvexität und Basis handelte im Anschlusse an eine Fraktur der Hinterhauptsschuppe und eine Rißquetschwunde der Kopfhaut. Als alleinigen Erreger der Gehirnhautentzündung ließ die exakt durchgeführte Untersuchung dasselbe Bakterium nachweisen, welches Hitschmann und Lindenthal auch bei ihren Fällen von Gangrène foudroyante vorgefunden und welches sie mit dem früher erwähnten *Bac. phlegmon. emphysem.* von E. Fraenkel identifiziert hatten.

Diese sicher interessante Beobachtung von Hitschmann und Lindenthal steht nicht vereinzelt da. Der Amerikaner Howard¹⁾ konnte 1900 über eine ähnliche, durch eben denselben *Bacillus* erzeugte Infektion berichten.

Es handelte sich dabei um eine fibrinös-eiterige Meningitis mit Gehirnabscessen und Gascysten im Gehirn im Anschlusse an die Operation einer Perinealfistel²⁾. Die Deckglas- und Schnittpräparate sowohl als auch die aërobe und anaërobe Kultivierung hatten auch in diesem Falle einzig und allein den „*Bac. aërogenes capsulatus*“ als Erreger nachweisen lassen.

Desgleichen können Verschiedenheiten in den pathologisch-anatomischen Bildern auch durch Rassenunterschiede, durch die sogenannte individuelle Disposition, durch die Art der Infektion etc. bedingt werden. Dafür gibt uns namentlich das Tierexperiment lehrreiche Beispiele: Das von E. Fraenkel, später von Welch und Flexner³⁾, Hitschmann und Lindenthal und anderen als eine der Ursachen der Gangrène foudroyante beschriebene anaërobe Bakterium erzeugt, wie uns namentlich E. Fraenkel sowie Hitschmann und Lindenthal durch viele einschlägige Versuche bewiesen haben, beim Meerschweinchen nach subkutaner Infektion ein ganz bestimmtes typisches Krankheitsbild, welches sich dadurch charakterisiert, daß meist schon kurze Zeit nach der Einverleibung des Virus unter schweren Allgemeinsymptomen sich im Unterhautbinde- und Fettgewebe Gas entwickelt, welches das subkutane Gewebe von der Muskulatur ganz oder teilweise abhebt. Daneben kommt es zum Austritte einer serös-hämorrhagischen Flüssigkeit, bald reichlicher, bald weniger reichlich. Die Muskulatur erscheint von Gasbläschen durchsetzt und wird braunrot, morsch und brüchig. Das Peritoneum parietale ist dabei rötlich oder bläulichrot, in der Bauchhöhle mehr oder weniger reichlich trübe und rötliche Flüssigkeit. Nirgends findet man Eiterung.

Während nun nach den eingehenden Untersuchungen von E. Fraenkel ähnliche oder gleiche Veränderungen auch bei den für dieses Bakterium hochempfindlichen Sperlingen zu beobachten sind, bleibt der Prozeß bei den dafür weniger empfänglichen Tauben strenger lokalisiert, die Tiere genesen, ebenso wie die Hunde, bei denen der nach subkutaner Infektion verursachte Krankheitsprozeß zwar auch noch mit starker Gas-

1) Howard, W. T. A contribution to the knowledge of the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (The Johns Hopkins Hosp. Reports. Vol. IX. 1900.)

2) "Case I. Operation for perineal fistula followed by acute fibrino-purulent cerebro spinal meningitis and ependymitis, with abscesses of the cerebrum, gas cysts of the cerebrum; cerebrospinal exudation; gas bubbles in the lungs, heart, liver and spleen, portal vein, and peritoneal cavity."

3) Welch and Flexner, Observations concerning the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (Journ. of exp. med. 1896. No. 5.)

entwicklung einhergeht, aber unter gleichzeitiger Bildung von echtem Eiter mit Nekrotisierung des Unterhaut- und Muskelgewebes.

Hierher gehört wohl auch der Fall, den Welch¹⁾ in seiner zusammenfassenden Publikation über den *Bacillus aërogenes capsulatus* aus seinem Laboratorium mitteilt: "Dr. Harris, in my laboratory, isolated the gasbacillus in pure culture from an abscess containing blood and pus in the neck of a dog, following an operation on the jugular vein. There was no gas in the abscess. Aërobic cultures were entirely negative."

Aber auch für den Menschen wurden Beobachtungen bekannt gegeben, die beweisen, daß der von Welch, E. Fraenkel etc. beschriebene anaërobe *Bacillus* im stande sei, Eiterung ohne Gasbildung auch im subkutanen Gewebe hervorzurufen. So verweisen sowohl Welch als auch Pratt und Fulton²⁾ auf den von Bloodgood³⁾ beschriebenen Fall, der eine Infektion mit dem „Gasbacillus“ betraf im Gefolge der Unterbindung der Femoralarterie wegen eines Aneurysma der Art. poplitea. Nachdem zunächst Gangrän und dann Gasbrand aufgetreten und als Ursache des letzteren der *Bacillus aërogenes capsulatus* erkannt war, wurde das Bein amputiert. "The months later a second amputation was done for the granulating stump. The *Bacillus aërogenes capsulatus* was again found in a small subcutaneous abscess, but there was no gas."

Diese Tatsache, daß einerseits pathologisch-anatomisch gleiche Veränderungen durch verschiedene Bakterien erzeugt werden können, daß andererseits dasselbe Virus verschiedene pathologisch-anatomische Veränderungen hervorzurufen vermag, ist eine schon längst bekannte und heutzutage wohl auch allgemein gültige. Wir haben dafür in der Pathologie genug Beispiele. Diese Tatsache ist aber auch insonderheit bei den Infektionsprozessen, ähnlich dem hier Mitgeteilten, zu wiederholten Malen schon hervorgehoben worden. Wir verweisen auch bezüglich dieses Punktes auf die beiden größten, dieses Thema behandelnden Arbeiten, die von E. Fraenkel und Hirschmann und Lindenthal. Und die beiden letztgenannten Autoren führen im 4. Punkte ihrer Schlußsätze, der da lautet: „Die Gangrène foudroyante stellt einen Sammelbegriff dar; es müssen darunter klinisch und anatomisch einheitliche, ätiologisch aber differente Infektionen subsumiert werden“ auch alle jenen bis dorthin bekannt gewordenen Mikroorganismen an, die als Erreger dieses Prozesses in Betracht kommen. Wir wollen diese Frage der Aetiologie an dieser Stelle nicht eingehender besprechen, wir wollen nur nochmals die Tatsache der verschiedenen Aetiologie der in Frage kommenden pathologisch-anatomischen Prozesse, speziell der durch die bekannten anaëroben Bakterien bedingten, mit Nachdruck hier hervorheben, weil sie unserer Meinung nach vielfach nicht entsprechend gewürdigt wird und weil gerade sie in erster Linie uns geeignet erscheint, zur Klärung einiger in diesem Kapitel der Pathologie noch unklaren und verworrenen Fragen beizutragen. Denn gerade bei diesen Krankheitsprozessen wird das ätiologische Moment sehr häufig mit pathologisch-anatomischen resp. klinischen Begriffen zusammen-

1) Welch, W. H., Morbid conditions caused by the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (Philad. med. Journ. 1900.)

2) Pratt, J. and Fulton, F., Report of cases in which the *Bacillus aërogenes capsulatus* was found. (Boston med. and surg. Journ. Vol. CXLIII. 1900.)

3) Bloodgood, Empysematous cellulitis. (Progressive med. Vol. IV. 1899.)

geworfen und es werden Namen, die nichts anderes als eine bestimmte pathologisch-anatomische Veränderung eines Körperteiles oder Organes ausdrücken sollten, gleichzeitig auch nicht selten als Bezeichnung für das Wesen der Erkrankung selbst benutzt.

Wohl am ausgesprochensten tritt dies bei demjenigen hierher gehörigen Krankheitsprozesse zutage, der unter der Bezeichnung „malignes Oedem“ allgemein bekannt ist. Wie schon früher erwähnt wurde, führte diese Bezeichnung R. Koch¹⁾ ein. Er wählte diese Bezeichnung deshalb, weil er damit den Unterschied seiner Auffassung von dem Wesen dieser experimentell erzeugten Krankheit gegenüber der von Pasteur vertretenen Meinung als einer Septikämie hervorheben wollte; denn seiner Meinung nach handelt es sich dabei um eine lokal bleibende Infektion. Die bei seinen Versuchen gefundenen Bacillen identifiziert R. Koch mit den von Pasteur gefundenen, obwohl Kochs Tierexperimente die Anwesenheit von Gasbläschen in dem das subkutane Gewebe durchtränkenden sanguinolenten Oedem vermissen ließen, während Pasteur diese als vorhanden beschreibt, ebenso wie Gaffky, der gleichzeitig mit R. Koch arbeitete, die Gasbläschen aber nicht mehr als zum Bilde der Reininfektion gehörig betrachtete.

Diese experimentell erzeugte Tiererkrankung also, gekennzeichnet durch ein fortschreitendes Oedem ohne Gasbläschen im Bereiche der Injektionsstelle und ihrer Umgebung, nannte R. Koch „malignes Oedem“ und den Erreger dieser Erkrankung: Bacillus des malignen Oedems. R. Koch hat also den Erreger eines bestimmten pathologisch-anatomischen Prozesses beim Meerschweinchen gleichzeitig auch nach diesem Prozesse benannt und damit — unserer Meinung nach wohl ohne bestimmte Absicht — das ätiologische Moment und die dadurch bedingte pathologisch-anatomische Veränderung gewissermaßen als untrennbar voneinander hingestellt.

Aber schon Brieger und Ehrlich²⁾ haben bei ihren zwei Fällen, die sie als durch den Bacillus des malignen Oedems R. Kochs erzeugt auffassen, ein Krankheitsbild beim Menschen beschrieben, welches von dem beim Meerschweinchen von R. Koch beschriebenen ganz wesentlich abweicht. Diese Fälle von Brieger und Ehrlich erscheinen deshalb besonders wichtig, weil sie als die ersten ätiologisch erwiesenen Beobachtungen von malignem Oedem beim Menschen gelten und weil sie, wie wir an dieser Stelle besonders hervorheben möchten, vielfach in der Literatur so hingestellt werden, als stimmten sie mit dem von R. Koch beschriebenen Krankheitsbilde völlig überein, was jedoch nicht der Fall ist. Brieger und Ehrlich beschreiben den ersten ihrer 2 Fälle wie folgt:

„In der Mitte der äußeren Seite desselben hatte sich um die kaum noch sichtbare Stelle der letzten Moschusinfektion (vom 16.) ein dunkelroter, ca. marktstückgroßer Fleck gebildet, der von einem etwa 2 Querfinger breiten, unregelmäßig konfigurierten, dunkelblauen Saume umgeben war. Von dieser dunkel gefärbten Stelle aus zog sich ein rabenfederkdicker, diffuser, bläulicher Streifen bis hinauf zum Poupartschen Bande, gleichfalls von einem unregelmäßigen, rosaroten Hofe umsäumt. Sowohl die verfärbte Partie als ihre nächste Umgebung bis zu einer Ausdehnung von 8 cm ist von teigig-ödematöser Konsistenz, die nicht gefärbten Partien wie fettglänzend; Druck auf diesem angeschwollenen Bezirke ist nur mäßig empfindlich, und hat man dabei das Gefühl leicht krepitierenden Knisterns.“ Diese Veränderungen nahmen noch zu. Bei der Sektion ergab sich folgendes Bild: „... der rechte Oberschenkel, welcher in seiner Vorderfläche

1) l. c.

2) l. c.

leicht blau verfärbt war, sehr stark, der Unterschenkel nur wenig emphysematös geschwollen war. Beim Einschneiden in den Oberschenkel zeigt sich das subkutane Binde- und Fettgewebe außerordentlich stark geschwellt, und zwar war diese Anschwellung dadurch bedingt, daß sich in den Maschen des Gewebes eine reichliche Menge trüber, deutlich übelriechender, mit Gasblasen durchsetzter Flüssigkeit eingelagert hatte. Der Druck, unter welchem diese Flüssigkeit stand, war ein ziemlich exzessiver, so daß aus den kleinsten Schnittstellen reichliche Flüssigkeitsmengen hervorquollen. Entsprechend den Bindegewebszügen erstreckt sich diese seröse Durchtränkung bis in die tiefsten Schichten des Zellgewebes. Die Muskeln erschienen sämtlich gerötet, doch trat in ihnen das Oedem sehr zurück, so daß makroskopisch davon eigentlich wenig zu sehen war. Beim Palpieren der Muskeln hingegen hatte man deutlich das Gefühl des Knisterns. Das Oedem des subkutanen Gewebes erstreckte sich über Ober- und Unterschenkel in ihrer gesamten Cirkumferenz. Nach oben hin war das Oedem auf zwei Wegen weiter vorgedrungen, einerseits war das ganze subkutane Gewebe der Unterleibswandungen ödematös infiltriert und zweitens hatten dieselben Veränderungen platzgegriffen im retroperitonealen Bindegewebe; hier war besonders die Gasentwicklung beträchtlich und hatte das lose Bindegewebe zu großen Blasen aufgetrieben, die, aufgestochen, ein Gas entweichen ließen, welches beim Anzünden mit hellblauer Flamme verpuffte und somit höchst wahrscheinlich Wasserstoffgas war.

Will man also die beiden Fälle von Brieger und Ehrlich, die ihrem pathologisch-anatomischen und wohl auch klinischen Bilde nach gleichartig¹⁾ waren, als die ersten beim Menschen bakteriologisch erwiesenen Fälle von Infektion mit dem „*Bacillus oedematis maligni* R. Koch“ betrachten — über die Berechtigung hierzu haben wir schon an anderer Stelle unsere Meinung kundgetan — so wäre schon damit erwiesen, daß auch bei den Infektionen mit dem *Bacillus* des malignen Oedems von R. Koch die pathologisch-anatomischen Veränderungen beim Meerschweinchen und Menschen keine einheitlichen zu sein brauchen. Und tatsächlich mehrten sich auch in der Folgezeit Beobachtungen von Infektionen am Menschen, die in ihrem klinischen und pathologisch-anatomischen Bilde durchaus nicht dem von R. Koch für das experimentell am Meerschweinchen geschaffene Krankheitsbild entsprachen, gleichwohl aber auch als durch den „*Bacillus oedematis maligni*“ erzeugt angesprochen wurden.

Insbesondere wurde in Frankreich als Erreger des dort mit dem Namen *Septicémie gangréneuse*, *Gangrène gazeuse* etc. bezeichneten Gasbrandes allgemein der „*Vibrio septique*“ angenommen, welcher wieder mit dem „*Bacillus* des malignen Oedems“ identifiziert wurde, so daß schließlich Gasbrand und malignes Oedem bei den meisten dasselbe bedeutete.

Die ohnehin bestehende Unklarheit über die hier in Betracht gezogenen Krankheitsprozesse wurde noch dadurch gesteigert, daß die meisten der mitgeteilten Untersuchungen nur lückenhafte und ungenaue Befunde als Grundlage aufwiesen und daß ferner das ätiologische, klinische und pathologisch-anatomische Moment nicht immer strenge auseinandergehalten wurden. Schon bei der Besprechung der Literatur des „malignen Oedems“ haben wir diese Punkte berührt. Die Verwirrung ging so weit, daß man selbst Prozesse mit dem Namen „malignes Oedem“ belegte,

1) Bezüglich des 2. Falles von Brieger und Ehrlich sagt der Sektionsbefund: „Der linke Oberschenkel zeigte die gleiche emphysematöse Infiltration wie oben, die sich hinein in die Bauchdecken und in das retroperitoneale Bindegewebe erstreckte.“ Ob auch bei diesem Falle Gas während des Lebens getastet werden konnte, wird allerdings nirgends hervorgehoben, doch wird im bakteriologischen Teil der Arbeit folgendes angeführt: „Es wurde unmittelbar nach dem Bade unserer beiden Patientinnen ein sorgfältig gereinigtes Troikart in die ödematösen Partien eingestoßen. Dabei entleerte sich ein übelriechendes Gas, dem dann durch äußeren Druck unterstützt, eine blutige, mit Fetttäugen durchsetzte Flüssigkeit nachfolgte.“

die ganz andere gut bekannte und studierte Krankheitserreger als Ursache haben, einzig nur deshalb, weil sie im klinisch-anatomischen Bilde oberflächliche Aehnlichkeiten zeigten mit dieser von R. Koch beschriebenen Erkrankung beim Meerschweinchen. So war es z. B. gang und gäbe — man findet es übrigens noch in einzelnen Lehrbüchern — von einem „malignen Oedem“ bei der Infektion mit Anthraxbacillen zu sprechen, wenn das sich der Hautinfektion anschließende Oedem der Umgebung einen besonders hohen Grad erreichte und sich auf weitem Umkreise erstreckte. Daß in solchen Fällen von Anthraxinfektion die Veränderungen dem beim malignen Oedem gleichen können, soll nicht in Abrede gestellt werden, doch erscheint es zweifelsohne unzweckmäßig, eine pathologisch-anatomische Veränderung mit demselben Namen zu bezeichnen, der bereits als Krankheitsbegriff Geltung hatte.

Ueberblicken wir die Literatur über das maligne Oedem beim Menschen, so finden wir eigentlich keinen völlig einwandfrei untersuchten Fall einer Reininfektion, welcher dem von R. Koch für das Meerschweinchen aufgestellten Krankheitsbild entspräche. Am nächsten kommt diesem Krankheitsbilde unserer Ansicht nach der von R. Muir und J. Ritchie¹⁾ erwähnte Fall, der wenig bekannt sein dürfte und deshalb hier angeführt sei:

„One of us has, however, observed a case in which the bacillus²⁾ was present in pure condition. Here there occurred intense oedema with swelling and induration of the tissues, and the formation of vesicles on the skin. Those changes were attended with a reddish discoloration, afterwards becoming livid. Emphysema was not recognisable until the limb was incised, when it was detected, though in small degree. Further, the tissues had a peculiar heavy but not putrid odour. The bacillus, which was obtained in pure culture, was present in enormous numbers in the affected tissues, attended by cellular necrosis, serous exsudation, and at places much leucocytic emigration. The picture, in short, corresponded with that seen on inoculating a guinea-pig with a pure culture.“

Nun haben wir in der vorliegenden Mitteilung (I. Teil) einen Fall beschrieben, der — abgesehen von anderen interessanten Tatsachen — sich dadurch auszeichnete, daß das pathologisch-anatomische Bild seiner Veränderungen völlig dem gleich, wie wir es bei der sogenannten Gangrène foudroyante zu sehen gewohnt sind, daß außerdem — worauf wir noch später zurückkommen werden — auch die feineren Gewebsveränderungen beider Prozesse sich als gleich erwiesen. Als Erreger des von uns beobachteten Falles wurde aber einzig und allein ein Bacillus gefunden, der mit dem gewöhnlichen Erreger der Gangrène foudroyante nichts zu tun hat und den wir gewissermaßen als Typus desjenigen Mikroorganismus aufstellen möchten, welcher als „Bacillus des malignen Oedems“ gelten soll. Wie wir in unseren ausführlicher mitgeteilten Tierversuchen einwandfrei gezeigt haben, ist dieser Bacillus im stande, beim Meerschweinchen das von R. Koch angegebene typische Krankheitsbild: fortschreitendes Oedem ohne Gasblasen zu erzeugen. Andererseits aber vermag derselbe Bacillus bei Tauben nach intramuskulärer Injektion Veränderungen hervorzurufen, bei denen das Oedem fast ganz in den Hintergrund tritt, während das Emphysem das Bild beherrscht. Es sei nur nochmals an dieser Stelle hervorgehoben, daß auch bei unseren zahlreichen Tierexperimenten das

1) l. c.

2) id est: Bacillus of malignant oedema.

Fehlen der Gasblasen beim Meerschweinchen nach subkutaner Injektion nicht die Regel bildete, daß im Gegenteil Oedem ohne Gas selten, aber zweifellos sicher zu beobachten war. Die Ansicht Gaffkys, als müsse bei Anwesenheit von Gasblasen im Oedem immer eine Mischinfektion vorliegen, hätte demnach keine Gültigkeit mehr und Pasteurs und Kochs Beschreibungen ihrer Beobachtungen am Meerschweinchen bildeten fernerhin keinen Widerspruch.

Wie aber sollen wir dann das von uns beim Menschen beobachtete Krankheitsbild bezeichnen? Es ist seiner Aetiologie nach sicher ein „malignes Oedem“, seinen pathologisch-anatomischen Veränderungen nach aber ein sogenannter „Gasbrand“, d. i. jene Veränderung, bei welcher das Emphysem in den Vordergrund der Erscheinungen tritt und die, wie wir heute wissen, meistens durch jenes Bakterium hervorgerufen wird, welches E. Fraenkel als *Bac. phlegmon. emphys.* beschrieben hat.

Es wird zugegeben werden müssen, daß die Notwendigkeit bestehe, uns von den bisherigen unklaren Benennungen und Begriffen loszusagen. Dies erscheint uns nur dadurch möglich, daß wir die schon von E. Fraenkel mit voller Schärfe ausgesprochene Meinung acceptieren, die beiden als „Gasphegmone, Gangrène foudroyante, Gasgangrän, Gasbrand etc.“ einerseits, als „malignes Oedem“ andererseits bezeichneten Krankheitsprozesse als eigene Erkrankungen aufzufassen, als Erkrankungen *sui generis*, die wohl gewisse klinisch-anatomische Veränderungen miteinander gemein haben können, ätiologisch aber völlig verschiedene Prozesse darstellen und deshalb streng auseinandergehalten werden müssen.

Es wäre demnach das ätiologische Moment für die Auffassung über das Wesen dieser Erkrankungen das maßgebende, das bestimmende, weil der Erreger dieser Erkrankungen, wenn wir uns so ausdrücken dürfen, eine gleichbleibende, konstante Größe darstellt, während das klinische und pathologisch-anatomische Bild verschieden sein können. Bei der Infektion mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ könnte demnach beispielsweise das eine Mal das subkutane Oedem, meist als sanguinolentes, das anatomische Bild beherrschen, entweder völlig ohne Gasblasen oder aber mehr oder minder reichlich von solchen durchsetzt. Ein anderes Mal wieder träte hingegen das rasch fortschreitende Emphysem der Muskulatur in den Vordergrund. Und bei der Infektion mit dem *Bac. phlegmon. emphysem.* von E. Fraenkel könnte das eine Mal der Gasbrand, das andere Mal ein evident entzündlicher Prozeß eines Organes etc. als pathologisch-anatomischer Ausdruck der Infektion nachweisbar sein.

Und daß eine derartige Auffassung dieser Krankheitsprozesse sicherlich eine Berechtigung hätte, glauben wir mit unseren Auseinandersetzungen gezeigt zu haben. Wir haben uns dabei nicht bloß auf unsere eigenen Erfahrungen, sondern auch auf die als einwandfrei anzusehenden Beobachtungen verlässlicher Autoren gestützt. Wir werden zu dieser Auffassung auch durch alle anderen gut gekannten Infektionsprozesse gedrängt und diese Auffassung paßt sich unseren jetzigen Anschauungen leicht und ungezwungen an. Damit wäre uns aber auch ein einfacher Weg gewiesen, andere diesen ähnliche Infektionsprozesse in der richtigen Weise zu verstehen und zu benennen. Und daß wir auch bei diesen so eigenartigen Infektionen mit anaëroben Bakterien bald von den bisher

bekanntes ätiologisch neue werden abtrennen müssen, dürfte wohl als sicher anzunehmen sein.

Daß diese Auffassung auch zu Recht bestehe, wenn man die feineren Gewebsveränderungen dieser Krankheitsprozesse näher ins Auge faßt, ist leicht zu zeigen. E. Fraenkel, welcher die ersten diesbezüglichen Untersuchungen am Meerschweinchen ausgeführt hat, betrachtet den durch den *Bac. phlegmon. emphysem.* erzeugten Prozeß in Uebereinstimmung mit seiner Ansicht über die makroskopischen Veränderungen als einen entzündlichen. Fraenkel bezeichnet bei Erörterung seiner Tierexperimente als ersten Effekt der Bakterieneinverleibung eine schmerzhafte Infiltration der Gewebe in der Umgebung der Stichstelle, mit der „meist eine mehr oder weniger massenhafte Exsudation hämorrhagischer, fleischwasserartiger Flüssigkeit“ einhergehe. Als das Charakteristische dieser Infektion finde sich „Gas im Bereiche der entzündeten Partien“. Und bezüglich der mikroskopisch sichtbaren Veränderungen hebt er neben den schweren Schädigungen an der Muskulatur das Vorkommen dichter kleinzelliger Infiltrate im intermuskulären Gewebe hervor. Fraenkel trennt aber den beim Menschen vorkommenden Prozeß scharf von den sogenannten „diffus eitrigen Phlegmonen“ der alten Chirurgen, da eigentliche Eiterbildung fehle. Damit zeigt Fraenkel zur Genüge, daß er das Wesen dieser Erkrankung richtig erfaßt habe und der Ausdruck „Gasphlegmone“, den er für diese Infektionen gewählt hat, sollte dieser seiner Ansicht gerecht werden. Die Auffassung von der entzündlichen Natur dieses eigenartigen Infektionsprozesses bringt E. Fraenkel auch in den späteren Arbeiten über denselben Gegenstand wiederholt deutlich zum Ausdruck. Seine Experimente an Hunden und seine zuletzt mitgeteilte Beobachtung beim Menschen, die hier bereits Erwähnung fand, rechtfertigen diese Auffassung; denn er konnte histologisch in diesem Falle, welcher eine Reininfektion mit dem *Bac. phlegmon. emphysem.* darstellte, „sowohl in der Subcutis als im Corium an verschiedenen Stellen kleinzellige Infiltrationsherde von nicht überall gleichmäßiger Ausdehnung“ nachweisen, welche sich vorwiegend aus polynukleären Leukocyten zusammensetzten. Ähnliche Herde fand er auch im *Perimyrium internum*.

Demgegenüber wollen Hitschmann und Lindenthal, die über viel eingehendere Untersuchungen am Menschen verfügen, eben denselben Krankheitsprozeß von den entzündlichen Prozessen überhaupt abtrennen und ihn als eine „Erkrankung eigener Art“ hinstellen. Sie bezeichnen als die wichtigste Veränderung des Gewebes die Nekrose und behaupten, daß die Reininfektionen vollständig frei seien „von allen Zeichen einer eigentlichen Entzündung“.

Der anscheinende Widerspruch, der durch diese verschiedene Auffassung über das Wesen des Prozesses zwischen E. Fraenkel einerseits und Hitschmann und Lindenthal andererseits besteht, ist jedoch kein unüberbrückbarer. Denn auch E. Fraenkel sieht nicht die entzündlichen Veränderungen, die seinen Beobachtungen und Versuchen zufolge tatsächlich nachweisbar sind, als das diesem Prozeß Eigentümliche, Charakteristische an, sondern betont ausdrücklich schon in seiner ersten Arbeit, daß die „Gasentwicklung in den zudem erweichenden und zerfallenden Geweben das Charakteristische und für die klinische Beurteilung Maßgebende“ sei und daß „von vornherein mit Gasentwicklung einhergehende Entzündungsprozesse im Bindegewebe auftreten können, bei denen „im ganzen Verlaufe jegliche Eiterbildung“

ausbleibe. Und die Beschreibung, die E. Fraenkel über die histologischen Veränderungen bei seinen Meerschweinchenversuchen gibt, zeigt zur Genüge, daß er den so schweren und charakteristischen Veränderungen der Muskulatur die richtige Würdigung entgegengebracht habe.

Andererseits sprechen aber auch Hitschmann und Lindenthal dem Erreger dieses Prozesses keineswegs die Fähigkeit ab, Entzündung zu erregen. Im Gegenteil! Sie sagen vielmehr: „Selbst wenn wir die Durchtränkung für entzündlich erklären, so müssen wir sofort sagen, daß die Entzündung bei der Gangrène foudroyante eine sehr untergeordnete Rolle spielt gegenüber den anderen Veränderungen“. Sie finden Leukocyten, bezeichnen ihre Menge aber im allgemeinen als spärlich und leugnen nur bei ihren Beobachtungen am Menschen „jede nennenswerte Infiltration“. Hingegen konnten sie „häufig“ eine wenn auch „geringe zellige Infiltration der Muskulatur“ im Meerschweinchenkörper nachweisen. Vor allem aber erscheint es uns wichtig, daß Hitschmann und Lindenthal, wie schon erwähnt, selbst über eine Reininfektion der Hirnhäute mit dem Bac. phlegmon. emphysem. berichten unter dem Bilde einer eitrigen Meningitis.

Wenn Hitschmann und Lindenthal die Gangrène foudroyante (Gasbrand) als einen besonderen Krankheitsprozeß hinstellen, so muß ihnen zweifelsohne beigestimmt werden, es geschieht dies aber — und wir hoffen die Autoren damit richtig zu verstehen — vor allem mit Rücksicht auf das klinisch-anatomisch Eigentümliche dieser „Wundinfektionskrankheit“ im Gegensatze zu dem als „Phlegmone“ bezeichneten und gekannten Prozeß. Diesen Gegensatz hat aber auch E. Fraenkel ebenso scharf hervorgehoben. Der Name „Gasphlegmone“, den er für die durch den Bac. phlegmon. emphysem. erzeugten Infektionen einführte, ist allerdings kein ganz glücklich gewählter, weil er leicht zu Mißverständnissen führt. Es muß aber ohne weiteres zugegeben werden, daß der Bac. phlegmon. emphysem., der Erreger der Gangrène foudroyante beim Menschen, bei Tieren Veränderungen zu erzeugen im stande sei, die die Bezeichnung „Gasphlegmone“ rechtfertigen. Man ersieht daraus nur wieder die Tatsache, daß dieses Bakterium auch verschiedene histologische Bilder hervorzurufen vermag.

Verhältnisse, ähnlich den eben geschilderten, finden wir nun auch bei den von uns beobachteten Fälle. Wir haben im ersten Teile unserer Publikation mit Absicht die histologischen Veränderungen — sowohl die am Menschen als auch die bei unseren Tierexperimenten gefundenen — eingehender geschildert, vor allem schon deshalb, weil es die erste genauere Untersuchung einer Infektion mit dem „Bacillus des malignen Oedems“ darstellt. Und wenn wir die dabei gefundenen Resultate überblicken, so finden wir bezüglich der feineren Gewebsveränderungen an den menschlichen Organen keinen Unterschied gegenüber denen, die Hitschmann und Lindenthal bei ihren so genau untersuchten Fällen darstellen. Auch in unserem Falle beherrschte die Nekrose und die seröse Durchtränkung das histologische Bild und die entzündlichen Veränderungen, deren Anwesenheit allerdings mit Sicherheit konstatiert werden konnte, traten ersteren gegenüber völlig in den Hintergrund.

Wir müssen für unseren Fall also auch histologisch vollständige Uebereinstimmung mit der durch den Bac. phlegmon. emphysem. von E. Fraenkel erzeugten Infektionserkrankung zugeben. Diese

Frage ist von E. Fraenkel noch offen gelassen worden, ebenso von Hirschmann und Lindenthal, die aber bereits die Vermutung aussprachen, daß sich die Gleichheit der als „Gasbrand“ bezeichneten Infektionen, die verschiedener Aetiologie sein können, auch im histologischen Bilde herausstellen werde.

Bei den histologischen Untersuchungen der in den verschiedenen Tierkörpern gesetzten Veränderungen fanden wir allerdings, daß manchmal auch die eigentlich entzündlichen Veränderungen mehr oder weniger in den Vordergrund traten oder zumindest in gleicher Stärke und Ausdehnung sich kundgaben wie die Nekrose und seröse Durchtränkung. Diese entzündlichen Veränderungen bestanden aber nicht bloß in der Bildung verschieden zellreicher Exsudate, es fanden sich vielmehr auch Bilder, die keinen Zweifel aufkommen ließen, daß wir es auch mit echter Eiterung zu tun haben. Ähnliches berichtet E. Fraenkel — wie erwähnt — bei Hunden auch für den *Bac. phlegmon. emphysem.*, so daß wir also auch hierin Uebereinstimmung der beiden ätiologisch differenten Infektionsprozesse anerkennen müssen.

Unter Berücksichtigung aller unserer im Vorherstehenden gegebenen Auseinandersetzungen glauben wir demnach den Beweis erbracht zu haben, daß sowohl die Infektion mit den als „*Bac. phlegmon. emphysem.*“ als auch die mit den als „*Bac. malignioedematis*“ bezeichneten Bakterien unter Umständen nicht nur in ihrem klinischen und grob anatomischen, sondern auch im histologischen Bilde völlig miteinander übereinstimmen können. Durch diesen unseren Beweis erscheint nunmehr die Frage endgültig gelöst, die Welch noch in seiner letzten Arbeit aufwirft, indem er sagt: „Wheter the bacillus of malignant edema can produce an identical or similar anatomical and clinical affection in human beings I regard at an unsettled question“.

Dabei müssen wir aber unbedingt auf dem Standpunkte von E. Fraenkel beharren, beide Prozesse als Erkrankungen *sui generis* hinzustellen, als Erkrankungen, die voneinander ebenso verschieden sind als z. B. die „echte Diphtherie“ von der „Streptokokkendiphtherie“.

Wir werden also für das richtige Verständnis dieser Prozesse ebenso wie bei unseren übrigen Infektionen das sie veranlassende ätiologische Moment als für das Wesen der Infektion ausschlaggebend ansehen, die durch diese Bakterien gesetzten Veränderungen jedoch dem Infektionsprozeß als solchem in gewissem Sinne unterordnen müssen. Und diese Auffassung muß dann bei der Benennung des Prozesses bzw. seiner Veränderungen zum Ausdruck gelangen.

Wenn wir also von „malignem Oedem“ als einem bestimmten, spezifischen Krankheitsprozesse sprechen, so sollten wir darunter immer die Infektion mit dem „*Bac. oedematis maligni*“ verstehen, dürfen damit aber nicht auch schon von Hause aus die Vorstellung verknüpfen, als müsse diese Erkrankung auch klinisch und anatomisch ausschließlich oder doch vorwiegend durch jene Veränderungen ausgezeichnet sein, die wir im pathologisch-anatomischen Sinne als Oedem bzw. seröse Durchtränkung bezeichnen, während Gasbildung oder eigentlich entzündliche Veränderungen völlig oder fast völlig fehlen müssen. Inwieweit dies beim Menschen der Fall sein kann, müssen neue Beobachtungen lehren, der zitierte Fall von Muir und Ritchie spräche dafür. Doch muß es

nicht sein. Es kann vielmehr vorkommen, daß auch beim malignen Oedem gerade jene Veränderungen in den Vordergrund treten, die sonst für die durch den *Bac. phlegmon. emphysem.* veranlaßte Infektion für gewöhnlich charakteristisch sind.

Dieselben Verhältnisse müßten natürlicherweise auch bei anderen analogen Infektionsprozessen Geltung haben. Wir haben bei unseren Auseinandersetzungen mit Absicht nur die zwei erwähnten Prozesse berührt. Es sei aber hier hervorgehoben, daß wir keinen Grund finden können, diese Auffassung nicht auch für andere Infektionen analoger Art gelten zu lassen. Man wird sich dabei nur befeißigen müssen, gewisse Bezeichnungen, die sich eingebürgert haben, nicht gleichzeitig für pathologisch-anatomische und ätiologische Begriffe gemeinlich zu gebrauchen.

Wenn wir nun für die erörterten beiden Infektionsprozesse unter den für dieselben schon vorliegenden Bezeichnungen als die unserer Ansicht nach passendste eine herausgreifen müssen, so sei uns vorerst gestattet, zu bemerken, daß wir der Ansicht beistimmen, die Schaffung neuer Namen am besten zu vermeiden. Unseres Erachtens müßte dieselbe unbedingt abhängig gemacht werden von einer richtigen Benennung der sie veranlassenden Bakterien. Da wir aber zur Zeit für die in Frage kommenden anaëroben Bacillen keine irgendwie begründete, annehmbare Einteilung besitzen, so erscheint dies derzeit unmöglich.

Indem wir uns diesen Gesichtspunkt vor Augen halten, werden wir also gut tun, die Bezeichnung „malignes Oedem“ beizubehalten und darunter nur eine Infektion mit einem spezifischen Anaërobion, dem „*Bac. oedematis maligni*“, verstehen.

Schwerer hingegen ist es, unter den Bezeichnungen, die für die Infektion mit dem *Bac. phlegmon. emphysem.* E. Fraenkel gang und gäbe sind, die beste herauszusuchen. Die Bezeichnungen: „Gasphlegmone“, „Gasnekrose“, „Gasgangrän“, „Gasbrand“¹⁾ sind unserer Meinung nach zu einseitige anatomische Begriffe. Im Namen „Gangrène foudroyante“ vermissen wir wieder vollständig den Hinweis auf die gerade dieser Infektion zukommende Gasbildung. Der Name „malignes Emphysem“ dürfte unserer Ansicht nach noch am meisten zusagen, gleichzeitig auch einen gewissen Gegensatz zur Bezeichnung „malignes Oedem“ darstellen und brächte dabei doch in Kürze das dieser Erkrankung Eigentümliche zum Ausdruck. Es erschiene uns diese Bezeichnung um so passender, als wir dann für den Erreger dieses Prozesses in Analogie zum „*Bacillus des malignen Oedems*“ den Gebrauch des Namens „*Bacillus des malignen Emphysems*“²⁾ vorschlagen könnten, eines Namens, den E. Fraenkel bereits 1899 in Erwägung gezogen und Hitschmann und Lindenthal 1 Jahr später acceptiert haben. Wir befänden uns sonach in Uebereinstimmung mit jenen Autoren, die in der Bearbeitung dieser Fragen zweifellos die größten Verdienste haben. Zudem könnte durch Abkürzung des Namens: „*Bacillus des malignen Emphysems*“ einfach in „*Emphysembacillus*“ dem Umstande Rechnung getragen werden, daß dieser *Bacillus* auch als hauptsächlichster

1) Mit dem Namen „Gasbrand“ wollten Hitschmann und Lindenthal die Infektion vom pathologisch-anatomischen Standpunkte aus kennzeichnen. In diesem Sinne ist der Name auch von uns gebraucht.

2) Selbstverständlich hat dieser *Bacillus des malignen Emphysems* mit dem von Wicklein unter dem gleichen Namen beschriebenen nichts weiter zu tun; es geht dies ja aus unserer Darstellung der Arbeit dieses Autors ohne weiteres hervor.

Erreger der sogenannten Schaumorgane in Betracht kommt. Welch und E. Fraenkel bezeichnen ja auch die von ihnen gefundenen Bacillen in ihren letzten Veröffentlichungen kurz als „Gasbacillen“. Es wäre somit, analog dem „malignen Oedem“, als „malignes Emphysem“ nur die Infektion mit dem „Emphysem- oder Gasbacillus“ zu verstehen.

Es erscheint geradezu überflüssig, zu bemerken, daß wir uns auch der Mängel dieser Bezeichnungen sehr wohl bewußt sind. Ganz umgehen könnte man die Benennungen „malignes Oedem“ und „malignes Emphysem“ bezw. andere dafür gebräuchliche nur dadurch, daß man schlechtweg von Infektionen mit dem „Bacillus des malignen Oedems“, „Bacillus des malignen Emphysems“ etc. spräche. Andere Namen aber für die Erreger der in Frage stehenden Infektionen einzuführen, wäre unserer Meinung nach aus den oben angeführten Gründen nicht am Platze.

Für die Beeinflussung des Krankheitsbildes könnte man verschiedene Momente als Ursache heranziehen, unter anderem wohl auch die Art der Einverleibung des Virus i. e. den Infektionsmodus. Denn es erscheint uns sicher nicht gleichgültig, ob diese anaëroben Bacillen im subkutanen Gewebe oder aber in der Muskulatur oder an anderer Stelle zunächst ihre Wirkung entfalten. Die Tierexperimente, die wir mit dem „Bac. oedematis maligni“ nach dieser Richtung hin anstellten, sprechen dafür, ebenso die Beobachtungen von Hirschmann und Lindenthal über die Infektionen mit dem „Bacillus des malignen Emphysems“ (Bac. phlegmon. emphysem.) am Menschen. Und vielleicht könnte man deshalb auch bei dem von uns beobachteten Falle die sicher ungewöhnliche Art der Infektion (siehe Sektionsbefund) mit verantwortlich machen für die Eigenart des Prozesses in seinem klinisch-pathologischen Bilde.

Wie schon früher hervorgehoben wurde, bezeichnen Hirschmann und Lindenthal als das Wesen der Gangrène foudroyante bezw. des Gasbrandes die Nekrose des Gewebes, hervorgerufen durch eine Vergärung derselben (Vergärungsnekrose“), während sie die entzündlichen Veränderungen als unwesentlich hinstellen. E. Fraenkel hingegen sieht den Prozeß als einen entzündlichen an.

Wir haben nicht die Absicht, die Richtigkeit der Auffassung Hirschmanns und Lindenthals zu prüfen, ob der zum Ausdruck gelangende Gewebsuntergang tatsächlich eine Folge der Vergärung des lebenden Gewebes sei oder nicht. Die Richtigkeit derselben aber vorausgesetzt, bildete diese Erklärung von dem Wesen des Prozesses unserer Meinung nach keinen absoluten Widerspruch zur Auffassung, wie sie E. Fraenkel vertritt. Daß tatsächlich in vielen, ja sogar in der größeren Mehrzahl der Fälle die Nekrose des Gewebes neben der Gasbildung das anatomische und histologische Bild beherrsche, während die entzündlichen Veränderungen fast ganz zurücktreten, ist zweifelsohne richtig. Andererseits kamen aber auch — wie wir schon bemerkt haben — Fälle von Infektionen mit eben denselben Bakterien zur Beobachtung, in welchen die entzündlichen Veränderungen in den Vordergrund traten. Auch haben wir schon früher auseinandergesetzt, daß auch Hirschmann und Lindenthal die entzündungserregenden Fähigkeiten dem Bacillus des malignen Emphysems keineswegs absprechen, sondern im

Gegenteil hinreichende Beweise dafür erbringen, daß solche Eigenschaften diesem Bakterium auch für den Menschen zukommen, ganz abgesehen davon, daß für den Tierkörper die entzündungserregende Fähigkeit dieses Bakteriums schon vielseitig bestätigt wurde.

Es könnte demzufolge unserer Meinung nach nicht sehr viel dagegen eingewendet werden, das Wesen dieser Infektionen als gleichzeitigen Ausdruck sowohl nekrosierender als auch entzündungserregender Wirkungen des dabei in Frage kommenden Bakteriums aufzufassen. Es ist uns ja auch von anderen Bakterien bekannt, daß viele derselben im stände seien, nicht bloß verschiedene Formen der Entzündung zu erzeugen, sondern auch Nekrose und daß diese Eigenschaften, welche ja auch nichts anderes als der Ausdruck einer bestimmten Bakterienwirkung sind, ganz gut nebeneinander einem Bakterium inne wohnen können. Mit dieser Auffassung stimmten auch gut die Beobachtungen überein, die wir mit dem Bacillus des malignen Oedems gemacht haben.

Daß für die zum Ausdruck gelangende Wirkung des Bakteriums das davon betroffene Gewebe als solches eine mehr oder minder große Rolle spiele, ist sicher und wir haben darauf auch schon anderenorts entsprechend hingewiesen.

Diese Fragen sind interessant genug, um noch eingehender verfolgt zu werden. Wir wollten durch den Hinweis auf dieselben nur zeigen, daß unserer Meinung nach die Auffassungen, welche derzeit über das Wesen dieser so eigenartigen Infektionsprozesse bestehen, nicht derartige seien, daß notwendigerweise eine die andere ausschließe.

Nachdruck verboten.

Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz Joseph-Universität in Kolozsvár. Direktor: Dr. Joseph v. Lőte, o. ö. Professor.]

Von Dr. Daniel Konrádi, Assistenten.

Seitdem zum ersten Male von Koch der Nachweis des Cholera-vibrio im Wasser eines verseuchten indischen Tanks gelungen ist, haben viele Forscher sich mit der Frage beschäftigt, wie sich die pathogenen Bakterien im Wasser verhalten und wie lange dieselben darin leben. Er war nämlich schon seit langer Zeit bekannt, daß durch Trinkwasser bei Menschen Cholera, Dysenterie, Typhus, bei Tieren Milzbrandinfektion zu stande kommt, aber der Nachweis des spezifischen Krankheitserregers gelang nicht immer. Die Ursache, warum der Nachweis nicht gelang, wurde mehrfach erklärt. Nach Bolton gehen die in das Wasser geratenen pathogenen Mikroorganismen deshalb zu Grunde, weil sie keine entsprechenden und ausreichenden Nährstoffe darin finden. Die Typhusbacillen bedürfen wenigstens 67 mg, die Choleraspirillen 400 mg organischer eiweißartiger Nährstoffe im Liter. Bei der schnellen Vernichtung spielt die schädigende Einwirkung des Lichtes und die Konkurrenz der Wasserbakterien eine große Rolle. Ferner muß die Temperatur, die Bewegung, die Tiefe des Wassers in Betracht gezogen werden. Nach Boltons Untersuchungen gingen die bei 35° gehaltenen sporenfreien Anthrax-

bacillen schon nach 55 Stunden, die bei 20° gehaltenen nach 6 Tagen im Leitungswasser zu Grunde. Die Anthraxsporen lebten im destillierten Wasser bei 20° 90 Tage, aber bei 35° gingen sie während dieser Zeit zu Grunde; im filtrierten Brunnenwasser lebten die Sporen bei 20° 20—30 Tage, aber bei 35° viel kürzer, hingegen lebten dieselben im unfiltrierten Brunnenwasser, bei 20° gehalten, 90 Tage lang. Bolton beobachtete auch noch das Verhalten des *Staphylococcus pyogenes aureus* und des *Typhusbacillus*; der erste ging im destillierten Leitungswasser und Brunnenwasser bei 20° während 20—30, bei 35° in 5—10, der *Typhusbacillus* — bei welchem Bolton auch sporenhaltige unterscheidet — bei 20° im destillierten Wasser innerhalb 14, bei 35° binnen 3, im Leitungswasser während 7 resp. 3 Tagen zu Grunde.

Wolffhügel und Riedel beobachteten die Anthraxsporen, die *Typhusbacillen* und die *Choleraspirillen* im unfiltrierten, filtrierten, sehr schmutzigen Bach- und Leitungswasser bei 30—35°, 12—15° und 7—10° und fanden, daß die *Typhusbacillen* in 10—32 Tagen, die *Choleraspirillen* binnen 24 Stunden im nicht sterilisierten Bach- und Brunnenwasser zu Grunde gehen, hingegen im Fluß- und Leitungswasser innerhalb 15 Tagen, im destillierten Wasser aber sofort. Der *Anthraxbacillus* gedeiht bei der höheren Temperatur anfangs gut (beinahe 4 Tage), geht aber bei 7—10° schon innerhalb 24 Stunden zu Grunde.

Nach den Untersuchungen von Kraus waren die dem Brunnen- oder Leitungswasser beigemischten pathogenen Bakterien schon im Verlaufe von wenigen Tagen aus dem Wasser verschwunden resp. entwicklungsunfähig geworden. Vom Kochschen *Vibrio* war schon nach 24 Stunden keine Spur mehr vorhanden. Die *Typhusbacillen* waren nach 6, die *Milzbrandbacillen* nach 3 Tagen nicht mehr im Wasser nachweisbar. Kraus zog auch die chemische Beschaffenheit in Betracht, woraus sich ergab, „daß der Untergang der pathogenen Bakterien ebenso rasch in dem reinsten Quellwasser wie in einem sehr stark verunreinigten Brunnenwasser erfolgt“. Kraus beruft sich sogar auf Arnould, welcher nicht ein Schüler Pettenkofers ist und dennoch dieselben Resultate fand, daß jedes Wasser für die pathogenen Bakterien ein „antipathisches Medium“ sei.

Karliński bestätigt die Untersuchungen von Kraus und kommt zu dem Resultate, „daß die pathogenen Pilze im Wasser weder sich vermehren noch überhaupt zu leben im stande sind. Nach seinen Untersuchungen lebten nämlich die *Typhusbacillen* nur 6 Tage, die *Milzbrandbacillen* und die *Choleraspirillen* kaum 72 Stunden.

Braem studierte die Degenerationserscheinungen pathogener Bakterien im destillierten Wasser. Er fand nämlich, daß in den *Anthraxbacillen* schon nach 48 Stunden die vakuoläre Degeneration Baumgartens auftritt, die *Bacillen* nehmen die Farbstoffe nicht an, quellen auf, verdicken sich, nach einem Verlaufe von 2 Wochen zeigt jeder *Bacillus* diese Erscheinungen, und nach 36 Tagen konnte man von ihnen kaum etwas sehen. Die *Choleraspirillen*, die *Typhusbacillen* und der *Staphylococcus pyogenes aureus* nehmen schon nach 2 Tagen kaum die Farbstoffe an, sind degeneriert; werden sie aber auf frische Nährböden gebracht, so gedeihen sie, und zwar gedeiht der *Anthraxbacillus* nach 12, der *Staphylococcus* nach 25—50, der *Typhusbacillus* länger als 60 Tagen, während die *Choleraspirillen* bloß nach 24 Stunden gedeihen.

Nach Frankland lebte der *Typhusbacillus* 34, der *Coli* 40 Tage

in bei 19 und 6° gehaltenem, nicht sterilen Themsewasser, während im sterilen dieselben 75 Tage lang lebten. Bei einer anderen Untersuchungsreihe gewöhnte Frankland langsam die Typhusbacillen so weit, daß sie sich auch im Wasser vermehrten, wobei „eine unzweifelhafte, wenn auch nicht sehr ausgedehnte Vermehrung stattgefunden hat“.

Besonders hervorzuheben ist die Mitteilung von Karliński. Er schüttete 5 l Typhuskultur in einen Brunnen, dessen bakteriologische und chemische Beschaffenheit er schon kannte. Er kam zu dem Resultate, daß die eingeführten pathogenen Bakterien „im Kampfe mit den sich rapid vermehrenden Wasserbakterien schnell zu Grunde gehen“.

Aehnliche Versuche stellten Emmerich und Pinto an, welche 1 l Cholerakultur in den Brunnen schütteten, fanden jedoch schon nach 72 Stunden keine Choleraspirillen darin.

Emmerich warf sogar auf Lycopodium getrocknete Anthraxsporen in den Brunnen und fand nach 36 Stunden keine Anthraxkulturen auf den aus diesem Wasser verfertigten Aussaaten. Mit diesem Wasser tränkte er 4 Wochen hindurch seine Schafe, welche dennoch alle gesund blieben.

Nach Strauss und Dubarry leben im sterilen und destillierten Wasser bei 15–20° die Anthraxsporen 131, die Typhusbacillen 81, die Choleraspirillen 39, der *Bacillus tuberculosis* 115, der *Bacillus mallei* 57, der *Streptococcus pyogenes* 15, der *Staphylococcus pyogenes* 21, der Friedländersche *Pneumobacillus* 8 Tage lang.

Ueber längere Lebensdauer der in das Wasser eingeführten pathogenen Mikroorganismen berichten Sirena und Scagliosi. Nach ihren Untersuchungen lebten die Anthraxsporen im sterilen, still stehenden destillierten Wasser 2¹/₂ Jahre, bei zeitweisem Umschütteln desselben jedoch nur 20¹/₂ Monate.

Mehrere Angaben aus der Literatur möchte ich auch darum schon nicht anführen, da dieselben sowieso gleiche Resultate zeigen, und zwar, daß die in das Wasser gelangten pathogenen Bakterien schnell zu Grunde gehen¹⁾.

Neuestens befaßte sich Mez mit dieser Frage sehr eingehend. Auch er bestätigt in vielem die Angaben der schon erwähnten Forscher, fügt aber dazu, daß die pathogenen Bakterien im reinen Wasser längere Zeit lebensfähig bleiben als im schmutzigen. Er schließt daraus, daß das reine Trinkwasser, wenn es schon einmal infiziert wurde, viel gefährlicher ist als das sehr stark verunreinigte.

Die Arbeit von Mez gab mir den Impuls, diese Frage näher zu betrachten. Am 19. April 1899 mengte ich unserem Leitungswasser, dessen Bakteriengehalt aus mehreren Untersuchungen schon bekannt war, Milzbrandbacillen bei, um zu sehen, wie lange dieselben darin leben. Wenn nämlich die eingeführten pathogenen Bakterien schnell zu Grunde gegangen wären, hätte ich den Schluß ziehen können, daß in unserem Leitungswasser die Zahl der Wasserbakterien eine große sei und umgekehrt, wie dies nach der Meinung von Mez zu erwarten wäre. Bei dieser

1) Ausführliche Literatur ist im Handb. d. pathog. Mikroorg., Kolle-Wassermann, Bd. I. 1902. p. 196–198 zu finden.

I. Untersuchungsreihe

beobachtete ich das Verhalten des Milzbrandbacillus im gewöhnlichen und sterilen Leitungswasser und zwar sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Thermostaten bei 37°. Von Zeit zu Zeit brachte ich auf sterile Nährböden aus diesen Wässern nach starkem Umschütteln einige Oesen und überzeugte mich, ob der Anthraxbacillus noch überhaupt lebt, und wenn ja, in welchem Mengenverhältnis er sich zu den Wasserbakterien befindet.

Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle:

Datum	Im Leitungswasser bei 37°	Im sterilen Wasser bei 37°	Im Leitungswasser bei Zimmertemperatur	Im sterilen Wasser bei Zimmertemperatur	Anmerkung
20. April 1899	Viele Wasserbakterien, wenig Anthraxbacillen	Anthrax in Reinkultur	Viele Wasserbakterien, wenig Anthraxbacillen	Anthrax in Reinkultur	
21. April	do.	do.	do.	do.	
24. April	do.	do.	do.	do.	
2. Mai	Wenige Wasserbakterien, mehrere Anthraxbacillen	do.	Wenige Wasserbakterien, mehrere Anthraxbacillen	do.	
16. Mai	Anthrax in Reinkultur*)	do.	do.	do.	*) Das aus dieser geimpfte Kaninchen ging an Milzbrand ein
15. August	do.	do.	do.	do.	
12. Sept.	do.	do.	kommt in den Thermostat	do.	
1. Dez.	Das Wasser ist eingetrocknet		Anthrax in Reinkultur	do.	
8. Jan. 1900	—	—	do. *)	do.	*) Das geimpfte Kaninchen † an Milzbrand
10. Jan.	—	—	Das Wasser ist eingetrocknet		

Wie diese Tabelle beweist, dominieren anfangs die Wasserbakterien, später vermindert sich ihre Zahl, zugleich aber vermehrt sich die Zahl der Milzbrandbacillen. Nach einer bestimmten Zeit gehen die Wasserbakterien ganz zu Grunde und es bleibt nur der Anthraxbacillus am Leben. Weiter ersehen wir auch, daß der Milzbrandbacillus seine pathogene Wirkung sogar binnen 264 Tagen nicht verliert.

Das Ergebnis der ersten Untersuchungsreihe war so überraschend, daß ich diesem Versuche keine Glaubwürdigkeit geschenkt hätte, wenn mehrere angestellte Versuche dasselbe nicht bestätigt hätten. Dies bewies auch die

II. Untersuchungsreihe,

welche ich 6 Tage später (25. April 1899) begann. Bei dieser Untersuchungsreihe wurden Milzstückchen eines an Milzbrand verfallenen Kaninchens unter denselben Bedingungen beobachtet. Das Resultat war folgendes:

a) Aus den bei 37° gehaltenen Leitungswasser verfertigten Aussaaten gedeihen am 24. Juni schon gar keine Wasserbakterien mehr, nur Anthraxbacillen und zwar in Reinkultur. Seine pathogene Wirkung verlor der Milzbrandbacillus auch jetzt nicht. Die Beobachtung dauerte bis zum Eintrocknen des Wassers (138 Tage).

b) Aus dem bei 37° gehaltenen sterilen Wasser entwickelten sich selbstverständlich Anthraxbacillen in Reinkultur.

c) Aus dem bei Zimmertemperatur gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich bis zum 12. November 1899 immer weniger und weniger Wasserbakterien, aber desto mehr Anthraxbacillen. Von nun an wurde auch dieses Wasser im Thermostaten gehalten, wo die Wasserbakterien ganz zu Grunde gingen, so daß am 1. Dezember nur Anthraxbacillen gefunden wurden. Das Ergebnis blieb immer dasselbe bis zum Eintrocknen des Wassers, was nach 258 Tagen erfolgte.

d) Der Anthraxbacillus lebte im sterilen Wasser bei Zimmertemperatur ebenfalls bis zum Eintrocknen des Wassers (258 Tage).

Es könnte jemand behaupten, daß beim Uebertragen von Agar-Agar oder mit den Milzstückchen nicht nur der Anthraxbacillus, sondern auch Nährstoffe mit in das Wasser gelangen konnten. Um dem vorzubeugen, wurden in einer

III. Untersuchungsreihe

die Anthraxsporen auf Seidenfäden getrocknet, in die Wasser gelegt. Dies geschah am 17. August 1899. Das Ergebnis war, wie folgt:

a) Aus den bei 37° gehaltenen, gewöhnlichen Leitungswasser verfertigten Aussaaten entwickeln sich bis zum 1. Dezember neben Anthraxbacillen auch Wasserbakterien. Am 8. Januar 1900 waren jedoch nur Anthraxbacillen zu finden, welche ihre pathogene Wirkung gar nicht einbüßten.

b) Die Anthraxsporen lebten im sterilen Wasser, bei 37° gehalten, bis zum Eintrocknen desselben (144 Tage).

c) Aus den bei Zimmertemperatur gehaltenen, gewöhnlichen Leitungswasser verfertigten Aussaaten entwickelte sich am 10. November 1900 nur der Anthraxbacillus. Dies blieb unverändert bis zum Eintrocknen des Wassers, was nach 816 Tagen erfolgte. Auch diesmal zeigte das Tierexperiment, daß die pathogene Wirkung noch nach so einer langen Zeit eine vollständige war.

d) Die bei Zimmertemperatur gehaltenen Anthraxsporen lebten im sterilen Wasser auch jetzt bis zum Eintrocknen des Wassers (816 Tage).

Wie wir sehen, lebte der Milzbrandbacillus und dessen Spore im Wasser immer bis zum Eintrocknen desselben. Um die Lebensdauer längere Zeit beobachten zu können, wurden in einer

IV. Untersuchungsreihe

am 25. Januar 1900 die in der Milz verborgenen Milzbrandbacillen in eine größere Portion Wasser gebracht. Das Resultat ergab:

a) Aus dem bei 37° gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich nach 1 Jahre neben Anthraxbacillen noch Wasserbakterien, doch nach 2 Jahren nur Milzbrandbacillen. Dieses Ergebnis ist nach 3 Jahren dasselbe, nach welcher Zeit auch diesmal das Wasser eintrocknete.

b) Im bei 37° gehaltenen, gewöhnlichen destillierten Wasser lebten die Milzbrandbacillen bis zum 4. Juni 1903.

c) Die bei 37° gehaltenen Anthraxbacillen lebten im sterilen destillierten Wasser nur 1 Jahr.

d) Aus dem bei Zimmertemperatur gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich nach 1 Jahre noch Wasserbakterien, aber nach 2 Jahren nur Milzbrandbacillen, welche noch nach 3 $\frac{1}{2}$ Jahren vollvirulent waren.

e) f) Im bei Zimmertemperatur gehaltenen sterilen und destillierten Wasser lebten die Anthraxbacillen 3 $\frac{1}{2}$ Jahre lang und behielten vollständig ihre pathogene Wirkung.

Es sei erwähnt, daß nach Verlauf einer so geräumigen Zeit die Bacillen ihre normale Form verändern, sie werden granuliert und nehmen die Farbstoffe nicht an.

Die angeführten Versuche zeigten, daß die Anthraxbacillen und die Anthraxsporen, im Wasser gehalten, anfangs die Wasserbakterien neben sich zur Entwicklung kommen lassen, nach einer Zeit jedoch gehen die Wasserbakterien zu Grunde und es bleiben nur die Anthraxbacillen am Leben. Demzufolge war es sehr interessant, lehrreich und für das praktische Leben sehr wichtig, nachzuforschen, wie sich die anderen pathogenen Bakterien unter den nämlichen Verhältnissen verhalten.

Aus diesem Grunde wurde in einer

V. Untersuchungsreihe

am 1. Dezember 1901 der *Staphylococcus pyogenes aureus* in das Wasser gebracht. Die Beobachtung ergab:

a) Aus dem bei 37° gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich am 11. Februar 1903 nur Eiterkokken. In diesem Wasser lebte der *Staphylococcus* 438 Tage lang.

b) In dem sterilen Leitungswasser, bei 37° gehalten, lebte der *Coccus* nur 1 Monat.

c) Im destillierten Wasser bei 37° lebte der Eitercoccus ebenfalls 438 Tage lang, wie im Leitungswasser.

d) Aus dem bei Zimmertemperatur gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich vom 2. Monate an nur Eiterkokken, welche ihre Virulenz gar nicht einbüßten. Unter solchen Verhältnissen lebte der *Coccus* 508 Tage lang.

e) f) In dem sterilen Leitungs- und gewöhnlichen destillierten Wasser war der *Coccus* nach 1 Monat nicht mehr lebensfähig.

Bei einer

VI. Untersuchungsreihe

brachte ich Eiter aus dem Nierenbecken eines an Pyämie eingegangenen Kaninchens in das Wasser, am 10. Dezember 1901. Das Resultat war:

a) Aus dem bei 37° gehaltenen Leitungswasser entwickeln sich am 11. Februar 1903 nur Eiterkokken. In diesem Wasser lebte der *Coccus* 511 Tage lang.

b) c) Im sterilen destillierten Wasser lebte der Coccus bei 37° 1 Monat, im gewöhnlichen, nicht sterilisierten destillierten Wasser hingegen 469 Tage.

d) Aus dem Leitungswasser bei Zimmertemperatur entwickeln sich vom 10. Mai 1903 an nur Eiterkokken. In diesem Wasser lebte der Coccus 545 Tage.

e) f) Im sterilen und gewöhnlichen destillierten Wasser war der Staphylococcus nach 1 Monat nicht mehr lebensfähig.

Auffallend war bei diesen Untersuchungen, daß der Staphylococcus pyogenes aureus im Wasser seine gelbe Farbe verlor, dieselbe aber beim Einimpfen in das Tier wieder gewann. Auch Günther erwähnt in seinem Lehrbuche, daß der Staphylococcus pyogenes aureus seine gelbe Farbe auf den Nährböden verlieren kann. Unsere Untersuchungen und Beobachtungen haben gezeigt, daß die aus dem Wasser isolierten chromogenen Mikroorganismen ihren Farbstoff sehr oft verlieren.

Am 9. Dezember 1901 wurden in einer

VII. Untersuchungsreihe

die Milzstückchen eines an Typhus abdominalis verstorbenen Menschen in das Wasser gebracht. Die Beobachtung ergab:

a) Aus dem Leitungswasser, bei 37° gehalten, entwickeln sich nach 1 Jahre nur Typhusbacillen. Das Ergebnis ist am 4. Juni 1903 dasselbe. In diesem Falle lebte der Typhusbacillus 542 Tage lang im Wasser.

b) c) Im sterilen und gewöhnlichen destillierten Wasser lebten bei 37° die Typhusbacillen 429 Tage lang.

d) Im Leitungswasser bei Zimmertemperatur war der Typhusbacillus 499 Tage lebensfähig.

e) f) Im gewöhnlichen und sterilen destillierten Wasser lebten die Typhusbacillen 499 Tage lang.

In einer

VIII. Untersuchungsreihe

wurden frisch gezüchtete Typhusbacillen in das Wasser gebracht und zwar am 18. Dezember 1901. Das Ergebnis war:

a) Aus dem bei 37° gehaltenen Leitungswasser entwickelten sich nach 1 Monat neben den Typhusbacillen noch Wasserbakterien, jedoch nach 1 Jahre nur Typhusbacillen. Unter solchen Umständen lebte der Eberthsche Bacillus 420 Tage.

b) c) Im sterilen destillierten Wasser lebte der Typhusbacillus 30, hingegen im gewöhnlichen 420 Tage.

d) Im Leitungswasser bei Zimmertemperatur waren am 22. April 1903 nur Typhusbacillen zu finden. In diesem Wasser lebten diese Mikroorganismen 490 Tage lang.

e) f) Im sterilen und gewöhnlichen destillierten Wasser waren die Typhusbacillen 490 Tage lang entwickelungsfähig.

Ich muß bemerken, daß bei jeder Gelegenheit alle Proben durchgeführt wurden, um die Diagnose der Typhusbacillen feststellen zu können.

Auffallend war bei dieser Untersuchungsreihe, daß der im Wasser gehaltene Typhusbacillus bei der Uebertragung in

Bouillon auf der Oberfläche derselben ein Häutchen bildet. Dies hatte ich bei den übrigen Typhusstämmen, die wir im Laboratorium weiterzüchten, nicht beobachtet.

Diesen Umstand, daß die Typhusbacillen so lange Zeit im Wasser lebensfähig sein können, halte ich für sehr wichtig, da er beweist, daß ein Wasser unter gewissen Bedingungen sehr lange die Quelle einer Epidemie sein kann. Dies beweist auch die Beobachtung von Moreau, die er bei der Epidemie von Boussay machte. Auch die Erfahrung von Lortet beweist dasselbe, welcher im Schlamm des Genfer Sees in einer Tiefe von 200 m und 40—50 m vom Ufer entfernt Coli- und Typhusbacillen fand. In der Beobachtung von Tavel lebte der Typhusbacillus in der Wasserleitung beinahe 7 Monate lang.

All diese Beobachtungen beweisen, daß der Erreger des Unterleibstypus außerhalb des menschlichen Organismus lange Zeit entwickelungs- und lebensfähig bleiben kann nicht nur im Wasser, sondern im Boden (Grancher und Deschamps, Karliński, Sidney Martin, Robertson, Rullmann, Pfuhl); im Faeces (Uffelmann, Schiller); im Mist (Gärtner); ja sogar — wie die Untersuchungen von Wurtz und Bourges zeigten — auch auf den Blättern und Stengeln solcher Pflanzen, die aus einem mit Typhusfaeces gemischtem Boden wuchsen. Die neueste Beobachtung stammt von Levy und Kayser, welche beweist, „daß unter natürlichen Verhältnissen die Typhuserreger sich sehr lange am Leben erhalten“.

In ihrem Falle kamen die Faeces eines Typhuspatienten undesinfiziert in eine zementierte Grube, verweilten darin 5 Wintermonate, wurden dann als Dünger auf einen Lehmboden gegossen und blieben auf demselben 15 Tage lang bei Wintertemperatur. Aus diesem Boden wurden die Typhusbacillen gezüchtet.

Zur leichteren Uebersicht gebe ich die Daten über die Lebensdauer der untersuchten pathogenen Bakterien im Wasser in folgender Tabelle (p. 211) wieder.

Ich kann aus meinen Untersuchungen folgende Schlüsse ziehen:

1) Die untersuchten pathogenen Mikroorganismen (Anthrax, Staphylococcus pyogenes aureus, Typhus) nehmen, wenn sie ins Wasser gelangen, unter bestimmten Verhältnissen den Kampf mit den Wasserbakterien auf, wobei während kürzerer oder längerer Zeit die Wasserbakterien zu Grunde gehen, hingegen bleiben die pathogenen lebensfähig.

2) Die pathogenen Bakterien können in den verschiedenen Wässern lange Zeit lebensfähig bleiben, welcher Umstand das Auftauchen mancher Epidemien erklären könnte.

3) Der Nachweis der pathogenen Bakterien aus dem Wasser wird auch dadurch erschwert, daß diese Mikroorganismen ihre biologischen Eigenschaften im Wasser verändern können. (Der Typhusbacillus bildet in Bouillon Häutchen, der Staphylococcus pyogenes aureus verliert seine gelbe Farbe.)

4) Die pathogenen Bakterien verlieren im Wasser sogar nach Jahren ihre krankheitserregende Wirkung nicht.

Name des Mikroben	Im Leitungswasser bei Zimmertemperatur			Im destillierten Wasser bei Körpertemperatur		
	Im Leitungswasser bei Zimmertemperatur	Im sterilen Wasser bei Zimmertemperatur	Im destillierten Wasser bei Zimmertemperatur	Im Leitungswasser bei Körpertemperatur	Im sterilen Wasser bei Körpertemperatur	Im destillierten Wasser bei Körpertemperatur
Anthraxbacillen in Kultur	Die Beobachtung konnte nur 264 Tage lang dauern					
Anthraxbacillen in Milz	Die Beobachtung konnte nur 258 Tage lang dauern			Die Beobachtung konnte nur 138 Tage lang dauern		
Anthraxsporen auf Seidenfäden getrocknet	Die Beobachtung konnte nur 816 Tage lang dauern			Die Beobachtung konnte nur 144 Tage lang dauern		
Anthraxbacillen in Milz	3 1/2 Jahre	3 1/2 Jahre	3 1/2 Jahre	3 Jahre	1 Jahr	3 1/2 Jahre
Staphylokokken in Kultur	508 Tage	30 Tage	30 Tage	438 Tage	30 Tage	438 Tage
Staphylokokken im Eiter	545 „	30 „	30 „	511 „	30 „	469 „
Typhusbacillen in Milz	499 „	499 „	499 „	542 „	429 „	429 „
Typhusbacillen in Kultur	490 „	490 „	490 „	420 „	30 „	420 „

5) Der Grund des Absterbens der pathogenen Mikroorganismen im Wasser liegt in den Degenerationserscheinungen, die sich in ihren Körpern abspielen.

6) Es ist auffallend, daß der Staphylococcus pyogenes aureus im sterilen Wasser unverhältnismäßig schneller zu Grunde geht als im Leitungswasser.

Literatur.

Arnould, Rev. d'hyg. T. IX. 1887.
 Bolton, Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886.
 Braem, Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path. Bd. VII.
 Emmerich u. Pinto, zit. Arch. f. Hyg. Bd. IX. 1889.
 Frankland, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895.
 Gärtner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII.
 Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie.
 Grancher et Deschamps, Arch. de méd. expér. etc. 1889.
 Karliński, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. VI. Arch. f. Hyg. Bd. IX.
 Koch, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. III. 1887.
 Kraus, Arch. f. Hyg. Bd. VI. 1887.
 Levy u. Kayser, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Lortet, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. IX.
 Mez, Mikroskopische Wasseranalyse. 1898.
 Moreau, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XV.
 Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.
 Robertson, Brit. med. Journ. 1898. Zit. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Rullmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901.
 Sidney, Martin, zit. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Sirena u. Scagliosi, zit. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XVII. 1895.
 Strauss et Dubarry, Arch. de méd. expér. 1889.
 Schiller, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. VI. 1890.
 Tavel, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.
 Trenkmann, zit. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XIII. 1893.
 Uffelmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. V. 1889.
 Wolffhügel u. Riedel, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. I. 1886.
 Wurtz et Bourges, Arch. de méd. expér. T. XIII. 1901.

Nachdruck verboten.

Bacillus conjunctivitis subtiliformis.

[Aus dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium von
Dr. S. Serkowski in Lodz.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. J. Michalski.

Vor 3 Jahren habe ich Gelegenheit gehabt, in Lodz eine Haus-epidemie von Conjunctivitis acuta zu beobachten, die 13 Menschen betroffen hat. Bei der bakteriologischen Untersuchung fand ich statt der Bacillen von Koch-Weeks und Morax-Axenfeld in allen Fällen, ohne Ausnahme, ein und denselben, etwas an *B. subtilis* erinnernden und zweifellos für die Augen pathogenen Bacillus. Seither fand und isolierte ich denselben Mikroben in mehr als 50 Fällen von Conjunctivitis acuta, dabei 3mal mit Staphylokokken zusammen und 1mal mit *Bact. septatum*¹⁾.

Bei lange dauerndem Einreiben der isolierten Bacillen in die Conjunctiva der Tiere entwickelte sich eine schnell vorübergehende Entzündung derselben, bei Einspritzung in das Corpus vitreum Panophthalmie während einiger Tage.

Weder subkutane noch intraperitoneale Einspritzungen haben bei Tieren irgend eine Reaktion hervorgerufen. Nur die Bacillen haben die beschriebenen Veränderungen im Auge hervorgerufen, auf filtrierte Bouillonkulturen (resp. Toxine) reagierten die Tiere gar nicht.

Zuerst hielt ich es für nötig, festzustellen, ob es sich hier nicht um den gewöhnlichen *Bac. subtilis* oder seine Modifikation handelt, was mir beim Vorhandensein des Heubacillus, der manchmal pathogene Eigenschaften besitzt, möglich zu sein schien. Haben doch Baenziger und Silberschmidt bewiesen, daß Heubacillen aus der Gartenerde sehr virulent für Augen sein können.

Die durchgeführten Untersuchungen haben diese Vermutung nicht bestätigt: Die aus verschiedenen Quellen (Staub, Wasser) isolierten Heubacillen in Lodz ebenso wie die aus anderen Laboratorien (Králs in Prag und von Piorkowski aus Berlin) erhaltenen unterscheiden sich wesentlich von der von mir geschilderten Art durch das Wachstum auf fast allen Nährböden, wie auch durch das Aussehen und den Bau der Kolonien auf Gelatine und Agar-Agar sowie auch durch die biologischen Eigenschaften.

Der von mir isolierte „*Bacillus conjunctivitis subtiliformis*“ unterscheidet sich nicht nur bedeutend vom Heubacillus selbst, sondern den Beschreibungen nach auch vom „*Bac. subtilis similis*“ Podbielskis und Sternbergs²⁾.

„*Bacillus conjunctivitis subtiliformis*“ stellt bewegliche, große Bacillen mit Geißeln dar, 2,0–2,5 μ lang und 0,5–0,6 μ dick, an den Enden abgerundet, sich gut mit allen Anilinfarben färbend. Nach Gram werden sie nicht entfärbt. Auf den Präparaten aus Bouillonkulturen gruppieren sie sich fadenartig, auf den unmittelbaren, besonders

1) Die Koch-Weeksschen Bacillen habe ich niemals gefunden.

2) Serkowski, Handbuch zur Erkennung der Mikroben. 1898. p. 94. [Russisch.]

aber auf den nach Nakanishi gefärbten Präparaten aus der Conjunctiva sind in vielen Bacillen die Babes-Ernstschen Körperchen sichtbar. In alten Kulturen enthalten die Bacillen eiförmige, zentrale Sporen. Aërobes Temperaturoptimum 37° C, aber auch bei gewöhnlicher Temperatur findet ein bemerkbares Wachstum statt. Die Reaktion der Nährböden wird im Dunkeln und im Thermostaten nicht geändert, außer der Reaktion der Milch, welche sauer wird. Der Geruch der alten Kulturen ist ziemlich angenehm, etwas an den der Hefen erinnernd. Die Milch wird unter dem Einfluß dieses *Bacillus* sauer, quarkartig; dann löst sich das Kasein aufs neue auf und in der letzten Periode besteht die Milch aus 3 Schichten, unter denen die mittlere klar, von gelber Farbe ist; beim Aufschütteln wird die Flüssigkeit gelb und trübe wie eine Emulsion.

Die Bouillon wird zuerst etwas trübe, bald aber wird sie völlig klar, indem sie sich auf der Oberfläche mit einer massiven, gelbbraunen, geschrumpften, wie beim Heubacillus auf die Wände des Probierrglases übergehenden Zoogloea bedeckt, auf dem Boden der Bouillon bildet sich kein Satz. In der Zuckerbouillon ist das Wachstum gleich. Die Indolreaktion ist negativ. Gasentwicklung findet in den zuckerhaltigen Nährböden nicht statt.

Die Kolonien auf der Gelatine haben (bei Zimmertemperatur) nach 48 Stunden makroskopisch das Aussehen von grauen Punkten; bei schwacher Vergrößerung scheint der körnige Kolonienrand etwas durch, ist zackig, nicht scharf begrenzt. Obgleich Gelatine verflüssigt wird, ist die Kolonie den Heubacillenkolonien nicht ähnlich, nicht mit einem Strahlenkranz umgeben und die Gelatine wird nicht ringartig verflüssigt, sondern vom Rande der Kolonie aus dringen in den verflüssigten Nährboden eiförmige Körnchen (wie bei der *Sarcina lutea*) ein. In den Probierrgläsern ist die Verflüssigung der Gelatine trichterartig.

Die Agarkolonien (im Thermostaten) sind rund, grau, gleichmäßig begrenzt und neigen zum Zusammenfließen. Der Nährboden um eine Kolonie herum wird allmählich rostig verfärbt; die Agarkolonien erinnern etwas an die Kolonien des *Bac. mesentericus* vulg. Längs des Striches wird die Oberfläche des Agar-Agar rasch mit einem massiven, weißlich-gelblichen Häutchen in Gestalt einer geschrumpften, erhabenen Aufsichtung (wie beim Heubacillus) bedeckt. Mit derselben Aufsichtung wird ein Teil der Probierrglaswände und die Oberfläche des nicht trübe werdenden und keinen Satz gebenden Kondensationswassers bedeckt. Auf der Agaroberfläche erscheint in einer Stichkultur nach 12 Stunden ein massives, ungleiches, gelblich-graues Häutchen und bedeckt auch teilweise die Probierrglaswände; längs des Kanals wird sein Wachstum nach unten zu allmählich schwächer und nimmt die Form eines zarten Häutchens an. Auf Glycerinagar ist das Wachstum besser als auf dem gewöhnlichen Agar. Auf der Kartoffeloberfläche bildet sich ein graues, dann schokoladenbraunes, feuchtes Häutchen und besteht, wie auch in anderen Nährböden, aus ungleichen hügeligen Erhöhungen; die Kartoffel wird auch oliven-schokoladenartig verfärbt.

Blutserum wird von diesem Mikroben verflüssigt. Der oben beschriebene *Bacillus* wurde von mir nur bei akuten Conjunctivitisfällen gefunden. Wie man aus der Beschreibung sieht, ist er einerseits dem Heubacillus ähnlich, andererseits dem sogenannten *Bac. megatherium*, der auf den Jequirityblättern angetroffen wird. Diese Mitteilung bezweckt,

die Aufmerksamkeit darauf zu richten, daß nicht alle großen, sporenhaltigen und sich nach Gram färbenden Bacillen auf Grund des bloßen bakterioskopischen Aussehens als unschuldige Heubacillen erkannt werden können. Es wäre wünschenswert, zu wissen, ob die von mir isolierte Art auch in anderen verstaubten Fabrikgegenden, außer Lodz, vorkommt.

Schließlich halte ich es für meine Pflicht, Herrn Dr. Serkowski meinen Dank für seine wertvollen Anweisungen auszudrücken.

Nachdruck verboten.

Can the "*Piroplasma bigeminum*" find a habitat in the human subject?

By Professor **A. Lingard**,

Imperial bacteriologist to the Government of India.

With 1 plate.

During the past two years several animals the subjects of one disease have been observed to develop the symptoms of a totally different form of malady during the course of the primary affection so that the organisms of the two diseases were present concurrently in the circulation of the affected animals.

The following instances have been observed viz:

1) Haemoglobinuria or Texas fever due to the presence of the "*Piroplasma bigeminum*" in plains animals, following inoculation with virulent rinderpest blood.

2) A trypanosoma which developed in the blood of a hill bull the subject of inoculated anthrax, and

3) The "*Piroplasma bigeminum*" developed in the blood of a donkey several weeks after the first appearance of the inoculated Surra trypanosoma.

In every instance it was found that the organism of the second disease which came under observation in the inoculated animals in each case respectively, had been lying dormant in the system, and was only lighted into action, after the power of resistance had been lessened or removed during the course of the primary disease.

It is well known that the chief symptom produced by the "*Piroplasma bigeminum*" in the cattle of some countries is haemoglobinuria, hence the name "Red water" given to this malady, and if looked for the organisms may be observed, on microscopical examination, in the red corpuscles, prior to the appearance of the above mentioned symptom.

In the present paper the question raised is whether the "*Piroplasma bigeminum*" as observed in the blood of cattle can enter the circulation of man, and there produce symptoms somewhat similar to those observed in bovines, but with this exception that in the human subject the above symptoms were secondary to an attack of benign tertian malarial fever. The two distinct forms of organisms being present concurrently in the blood of the patient.

The point of interest is that a native cattle attendant, an inhabitant of the hills, making a short sojourn in the plains sleeping near to bovines, the subjects of Texas fever, and drinking water (unboiled) from

an enzootic area, developed an illness out of all proportion to that which usually accompanies benign tertian fever, and that in addition haemoglobinuria as a symptom occurred on three occasions, during the presence of the organisms in the blood, and coinciding with the presence of certain pear shaped bodies in the blood plasma.

The patient fresh from the hills visited the plains in November-December, 1902. In January, 1903, he developed symptoms of malarial infection accompanied by high fever. On microscopical examination of the blood, enormous numbers of red corpuscles were discovered to be occupied by small pear-shaped parasites, but in addition many red blood corpuscles were wholly or in part invaded by plasmodia and some were enlarged. All the plasmodia containing corpuscles presented pigment in rods which were observed to be moving rapidly. Further rosettes were observed with the masses of circular shaped pigment centrally placed, these corpuscles containing from 14 to 18 segments, but no crescents or flagella were observed at any period of the disease. The chief diagnostic points with regard to benign tertian fever in India according to Buchanan are the following:

- a) Invaded red corpuscle is enlarged.
- b) The red corpuscle loses its colour and becomes clear.
- c) The pigment is in rods.
- d) The pigment moves rapidly.
- e) The rosettes have about 20 parts.
- f) Absence of crescents.

All of which characteristics were verified microscopically in specimens of the patient's blood.

After a severe illness lasting nearly 3 weeks, in all, the patient recovered. There was no return of haemoglobinuria during a period of 10 months following the attack. During the illness there were no marked bilious symptoms, no bilious vomiting or suppression of urine, therefore bilious remittent fever was excluded from the diagnosis. We are aware that a great similarity exists between the "*Piroplasma bigeminum*" and certain forms of malarial parasites, and that this great likeness has been previously pointed out by different observers. In the present case, however, certain symptoms common to Texas fever were present in the human subject which as far as I am aware are seldom, if ever, present in benign tertian viz:

- 1) Continued remittent fever, following on several paroxysms of benign tertian, and lasting 10 to 12 days.
- 2) Haemoglobinuria (on three occasions).
- 3) Prolonged delirium followed by great prostration.
- 4) Considerable loss of weight, not observed in benign tertian.
- 4) Quinine in large doses was followed by little or no amelioration as regards the course of the fever.

The question of human beings contracting the disease from ticks is very remote. The most careful enquiries amongst cattle attendants in this district have failed to elicit the fact that man is attacked by *Ixodes* on any part of the body other than the external auditory meatus. Here ticks do enter, probably during sleep, and fix themselves. Their removal is fraught with considerable difficulty, the force generally necessary detaching a portion of the attached skin, when the parasite has drawn much blood and has consequently increased considerably in size. The patient in question has not been attacked by ticks since he was a child.

At that period on one or more occasions ticks entered his external auditory meatus but were quickly discovered and removed.

The natives in this neighbourhood aver that fever generally follows the entrance of *Ixodes* into the ear, but its nature is not of a serious character.

The case brought forward is an isolated one, and therefore it is difficult to draw any definite conclusions, but two points stand prominently forward with regard to the organisms observed during the course of the two diseases in bovines and in the human subject.

1) The intra corpuscular changes of the organisms as observed in bovines and human blood respectively were not accompanied by the deposition of pigment; whereas when many ring forms in benign tertian are observed, in some at least pigment in small quantities may be noted sooner or later as development proceeds.

2) In Texas fever in bovines, on the day following that on which the maximum temperature has been recorded, large numbers of pear shaped bodies are discovered free in the blood plasma, and generally haemoglobinuria is present for the first time. In the human subject, other facts being the same, the pear shaped bodies were found lying free in the blood plasma but in much smaller numbers.

The point at issue is, are the organisms from human blood as depicted in the illustration — which in every instance coincide in form with some of those found in the red corpuscles of bovines the subjects of Texas fever — simply the ring and other forms of the benign tertian parasites or are they true „*Piroplasma bigeminum*”?

Explanation of Illustration.

A = Animal (bovine).

H = Human.

The intra-corpuscular organisms depicted in the illustration were drawn from specimens of blood from bovines and from the human subject. They were stained by a modification of the Romanowsky method, and have been placed in apposition for comparison.

A. Bovines which were inoculated with virulent rinderpest blood and which during the course of the disease developed spontaneous haemoglobinuria or Texas fever.

H. Man. Attacked with malaria (benign tertian) and after several days by a remittent form of fever accompanied by haemoglobinuria.

Magnification Leitz oil immersion $\frac{1}{12}$, Oc. IV. Tube length 170 mm.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage der Bildung toxischer Substanzen durch Lyssavirus.

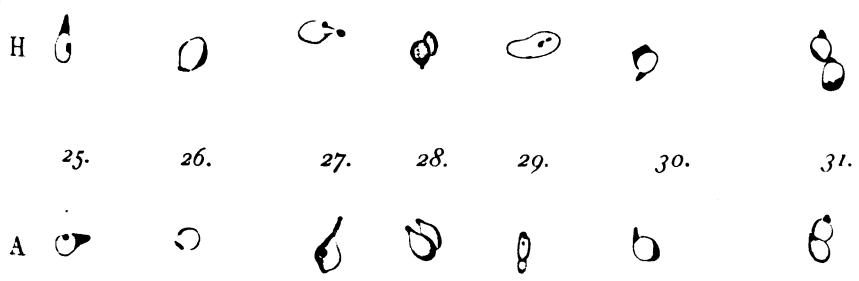
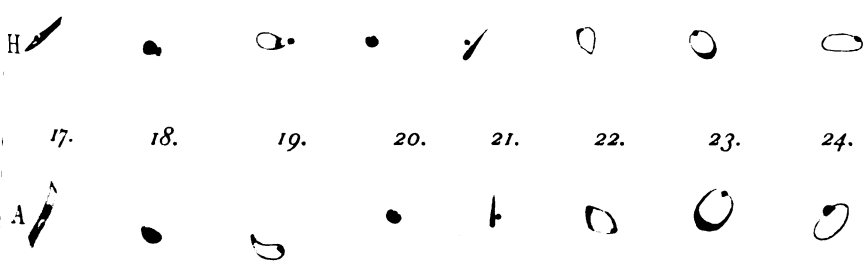
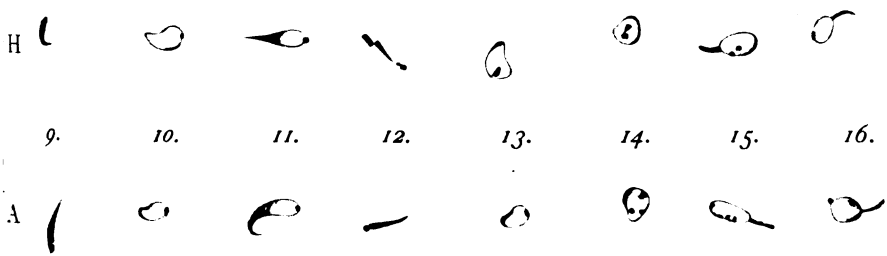
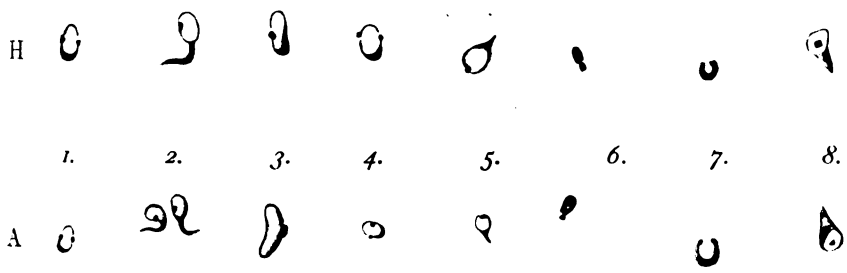
[Aus dem Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten.
Direktor: Prof. Tavel.]

Dr. O. Heller,
Chef der Wutabteilung am Institut für
Infektionskrankheiten, Bern.

Von
und

Dr. E. Bertarelli,
Privatdozent f. Hyg., Turin.

Ueber die Entstehung toxischer Stoffe im Zentralnervensystem von Tieren, die an Lyssa erkrankt und zu Grunde gegangen sind, finden sich in der Literatur mehrfach Angaben.



A. Babes gelang es, eine toxische Substanz aus Lyssagehirnen zu gewinnen, die bei Kaninchen Temperatursteigerung und Lähmungen verursachte, aber keine echten rabischen Symptome. Anrep stellte aus Lyssagehirnen ein Ptomain her, welches in einer Dose von 0,01—0,05 mg, subkutan injiziert, rabische Symptome erzeugte. Er prüfte auch die filtrierte Flüssigkeit einer Emulsion von Lyssagehirnen, aber ohne Resultat. Auch de Blasi und Russo Travali stellten Untersuchungen an über die Wirkung des Filtrates von Lyssagehirnemulsionen; injizierten sie sehr große Mengen, so erhielten sie Lähmungen. Babes gelang es, im Verein mit Lepp und mit Cerchez, bei ähnlicher Versuchsanordnung sowohl mit Filtraten sowie mit Emulsionen, die längere Zeit hohen Temperaturen ausgesetzt waren, Giftwirkungen zu erzielen. Auch gelang es ihm, durch langsames Steigen mit den Dosen Tiere gegen die toxischen Stoffe zu immunisieren. Einzelne andere Versuche finden sich zerstreut in der Literatur angegeben, und wir verzichten deshalb auf ihre Wiedergabe. Das Interesse für die Frage der Toxinproduktion des Lyssaerregers hat sich inzwischen nicht verringert; besitzt die Frage doch größte Wichtigkeit für die Pathogenese und den Verlauf der Krankheit, für die Erklärung der Erkrankung einzelner Organe, insbesondere aber auch für die Vorgänge bei der Immunisation und schließlich für Schutzimpfung und Therapie.

In letzter Zeit gewann die Frage eine ganz besondere Bedeutung durch die Resultate der Arbeiten Negris und derer, welche dieselben einer Nachprüfung unterzogen. Es sind die pathologischen Veränderungen, welche im Verlaufe der Lyssa am Zentralnervensystem auftreten, hinreichend bekannt. Obwohl man immer bestrebt war, spezifische Veränderungen festzustellen, ist es im großen ganzen doch nur gelungen, Vorgänge nachzuweisen, die auch bei anderen Krankheiten des Zentralnervensystems mehr oder minder auftreten und sich wie bei diesen auch bei Lyssa allgemein über Gehirn und Rückenmark erstrecken. In einem auffallenden Gegensatz hierzu stehen die Befunde Negris, dem es gelang, nur an bestimmten bevorzugten Stellen die protozoenähnlichen Gebilde nachzuweisen und zwar in Rücksicht auf die Schwere der Erscheinungen immerhin nur in mittelmäßiger Zahl. Wenn man in den von Negri beschriebenen Körperchen die Lyssaerreger zu vermuten geneigt ist, so müssen die angeführten Tatsachen unbedingt dafür sprechen, daß es die Wirkung gewisser, von den gefundenen Erregern produzierter Substanzen ist, welche in einigen pathologischen Veränderungen der Lyssa zum Ausdruck kommen. Wie sich die Befunde Negris zur Infektiosität des ganzen Zentralnervensystems verhalten, darauf einzugehen, ist hier nicht der Ort. Dagegen konzentrierte sich unser Interesse darauf, die mutmaßlichen toxischen Produkte des Lyssaerregers, vom Lyssaerreger und von der großen Menge der Cerebralsubstanz zu isolieren. Wir versuchten in dieser Absicht auf verschiedene Weise, aus dem Zentralnervensystem an Lyssa verendeter Kaninchen Stoffe zu gewinnen, welche, wenn man sie Kaninchen, Meerschweinchen, Mäusen oder Hunden injizierte, lyssaähnliche Symptome erzeugen sollten, und die sich aus normalen Kaninchengehirnen nicht gewinnen lassen.

In erster Linie war festzustellen, ob sich toxische Stoffe im Zentralnervensystem nicht an bestimmte Stoffe gebunden, sondern frei im Gewebssaft gelöst, vorfinden.

A. Zu unserem Zwecke wurden Gehirn- und Rückenmark von Lyssakaninchen verrieben, mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion

bereitet und diese filtriert. Zur Filtration wurden verschiedene Filtersysteme verwendet, und zwar gebrauchten wir immer sehr dichte Kerzen, um den Durchgang des Erregers durch die Kerzen unmöglich zu machen.

B. In der Annahme, die gesuchten toxischen Substanzen könnten in zu geringer Quantität frei vorhanden sein, als daß man sie von den Erregern isolieren und mit ihnen bei Versuchstieren Lyssaintoxikationen erzeugen könnte, versuchten wir die Produktion dieser toxischen Stoffe künstlich zu vermehren. Lyssagehirne werden in physiologischer Kochsalzlösung für 8 Tage in den Brutschrank gebracht, alsdann wird verfahren wie unter A.

C. Es ist möglich, daß die eventuell vorhandenen toxischen Stoffe nicht löslich sind und das Filter nicht passieren können. Wir versuchten deshalb, die Erreger abzutöten und in der unfiltrierten Emulsion toxische Substanzen nachzuweisen. Die frische Emulsion von Lyssagehirnen wird eine halbe Stunde auf 70° erhitzt. Da durch diese Temperatur auch die toxischen Stoffe vernichtet oder abgeschwächt werden können, wird eine gleiche Emulsion eine halbe Stunde lang auf 45° erhitzt.

D. Weiterhin gingen wir von dem Gesichtspunkte aus, es könnten die toxischen Stoffe an bestimmte Substanzen des Nervensystems gebunden sein. Vor allem kommen hier die Fette in Betracht. Unser Gedanke war, die toxischen Stoffe der Filtration zugänglich zu machen, indem wir eine frische Gehirnemulsion mit Aether oder Alkohol extrahierten und das Aether- resp. Alkoholextrakt unter Druck durch Chamberland-Kerzen filtrierten. Das Filtrat wurde unter dem Vakuum vom Aether resp. Alkohol befreit; die gewonnene Substanz intraperitoneal appliziert.

E. Als weitere Körper, die eventuell produzierte Giftstoffe binden können, kommen die Nukleoproteide in Betracht. Lyssagehirn und Rückenmark wurden nach den Angaben Lustigs für das Pestnukleoprotein in 1-proz. Kalilauge gelöst, die Lösung mit 1-proz. Essigsäure bis zum Eintritt einer Fällung versetzt, die ausgefällte Substanz mit sterilem Wasser gewaschen, in alkalischer Flüssigkeit gelöst und injiziert. Und zwar prüften wir sowohl die Wirkung einmaliger wie mehrmaliger Injektionen auf Intoxikations- und Immunisierungserscheinungen. Denn es wäre wohl denkbar, daß sich, falls dem gewonnenen Nukleoprotein spezifische Eigenschaften zukämen, auch eine gewisse Immunität gegen den Lyssaerreger oder gegen seine Stoffwechselprodukte mit ihm erzeugen ließ.

F. In letzter Hinsicht versuchten wir die toxischen Stoffe durch verstärkte mechanische Hilfsmittel zu gewinnen. Lyssagehirne wurden mit Quarz und Kieselgur verrieben und mit der Buchnerschen Presse bei einem Druck von 300 Atmosphären ausgepreßt. Der Preßsaft wurde filtriert und injiziert.

A und B. Versuche mit filtrierter Emulsion. Zur Verwendung kamen frisches Gehirn und Rückenmark an Lyssa verendeter Kaninchen. Dieselben werden unter allen Kautelen der Sterilität im Mörser fein zerrieben, physiologische Kochsalzlösung in verschiedenem Verhältnisse zugesetzt und diese dick-dünnflüssige Emulsion in folgende Filterkerzen eingefüllt:

- a) Reichel-Filter, filtriert mit der Vakuumpumpe,
- b) Chamberland-Kerze B, filtriert mit der Luftdruckpumpe und gleichzeitig mit der Vakuumpumpe,
- c) kleine Chamberland-Laboratoriumskerzen, filtriert mit der Vakuumpumpe.

Mit diesen Filtraten (durch Kerzen Chamberland, kleine Chamberland, Reichel) ist es uns niemals gelungen, die Lyssa hervorzurufen. Es wurden Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse und Hunde intravenös, intraperitoneal und intracerebral injiziert. Bei intravenöser und intraperitonealer Injektion (Kaninchen und Hunde) betrug die Dosis mindestens 5,0 ccm des Filtrates. Wir verzichteten darauf, die Tierprotokolle in extenso wiederzugeben, denn unsere Versuche erstrecken sich auf über 200 Tiere. Die Tiere wurden nach den Injektionen 7 Monate lang beobachtet und in den ersten Wochen in regelmäßigen Zeitabständen gewogen, Respiration, Temperatur und Bewegungsvermögen kontrolliert sowie Beobachtungen über das Allgemeinbefinden (Freßlust etc.) angestellt. Wir beschränken uns deshalb auf die Mitteilung, daß bei Anwendung oben geschilderter Filtrate akute Intoxikationserscheinungen nicht aufgetreten sind, dagegen waren infolge der Injektionen Abmagerung, allgemeiner Marasmus und Tod bisweilen das Resultat. Intracerebrale Verimpfungen von Gehirn derartig verendeter Tiere auf andere Kaninchen bewiesen, daß es sich in keinem Falle um wirkliche Lyssa, sondern lediglich um eine Intoxikation handelte. Inwieweit man diese für spezifisch ansehen darf, werden wir später sehen. Die Injektionen wurden bei mehreren Versuchstieren öfter wiederholt und es zeigte sich, daß diese Tiere allmählich eine geringere Empfindlichkeit gegen das Injektionsmaterial erwarben; eine sichere Immunität gegen Lyssa war jedoch nicht zu erreichen.

Wie vorn unter B auseinandergesetzt, wurde versucht, die Bildung toxischer Substanzen zu vermehren. Die Filtration geschah mit den gleichen Apparaten wie bei A. Es kann nicht wunder nehmen, daß eine intracerebrale Impfung mit der über den Lyssagehirnen stehenden Salzlösung ohne vorherige Filtration Lyssa erzeugte. Wie unter A, wurde gleichfalls intravenös die Minimaldosis von 5,0 ccm, intracerebral jedoch mit Rücksicht auf die Applikationsstelle nie mehr wie 0,1 ccm gegeben, ohne jedoch ein anderes Resultat wie unter A zu erreichen.

C. Versuche mit erwärmten Emulsionen. Die auf 70° und 45° je $\frac{1}{2}$ Stunde lang erhitzten Emulsionen wurden mit Rücksicht auf die Art des Materiales nur intraperitoneal in einer Menge von 5,0 ccm injiziert; akute toxische Wirkungen traten hierbei nicht auf; aber ebenfalls stellte sich eine allmähliche Kachexie ein, so daß die Tiere nach 3—4 Wochen verendeten. Das Sektionsresultat war in solchen Fällen negativ. Einige Versuchstiere erlagen in der 4. Woche interkurrenten Erkrankungen (Absceß durch Bisse, Pneumonie). Die intracerebrale Verimpfung des gleichen Materiales erzeugte in keinem Fall eine Erkrankung an Lyssa.

D. Das Filtrat des Alkohol- und Aetherextraktes, welches, wegen der Verdampfung des Aethers im Vakuum, nur mit Druck durch Chamberland-Kerzen gewonnen wurde, stellte eine klare, gelb gefärbte Flüssigkeit dar. Nachdem der Alkohol resp. Aether im Vakuum verdampft war, blieb eine gelbbraune Masse von talgähnlicher Konsistenz zurück, die sich weder bei Bluttemperatur verflüssigte noch in einer indifferenten Injektionsflüssigkeit löslich war. Wir entschlossen uns deshalb zur intraperitonealen Applikation der Substanz sowohl frei als eingeschlossen in ein Kollodiumsäckchen. Es erfolgte auf die Operation keine Reaktion. Nach einer vorübergehenden geringen Gewichtsabnahme kehrten die Tiere zum früheren Gewicht zurück; Intoxikationserscheinungen traten nicht auf. Die Beobachtung erstreckte sich auf 4—5 Monate.

E. Mit dem nach Lustigs und Galeottis Angaben gewonnenen

Nukleoprotein, das subkutan in Lösung injiziert wurde, konnten Vergiftungserscheinungen desgleichen nicht hervorgerufen werden. Eine mehrfache Wiederholung der Injektionen hatte keine Immunisation zur Folge. Wir müssen daraus schließen, daß für Lyssa spezifische Stoffe in dieser Fällung nach Lustig und Galeotti nicht nachweisbar vorhanden sind.

F. Die Experimente, Gehirn und Rückenmark von Lyssakaninchen mit der Buchner-Presse zu exprimieren, wurden gleichzeitig mit mindestens 4 Gehirnen angestellt. Der mit der Buchner-Presse gewonnene Saft wurde filtriert und intravenös injiziert. Die Versuche wurden während langer Zeit von dem einen von uns (Heller) fortgesetzt und in verschiedenen Modifikationen wiederholt. Da die Resultate derselben an anderer Stelle in extenso publiziert werden, wollen wir uns darauf beschränken, anzuführen, daß die Injektion des gewonnenen Materiales Intoxikationssymptome hervorrief. Doch traten diese Symptome nicht konstant ein; sie bestanden in Abnahme der Freßlust, Abmagerung und eventuell in einem unter Lähmungserscheinungen zum Tode führenden Marasmus. — Sämtliche unter A—F erwähnten Experimente wurden zur Kontrolle mit normalem Kaninchenhirn angestellt. Nach den unter A, B und F angestellten Methoden ließ sich beweisen, daß die normale Nervensubstanz für einen anderen Tierkörper toxische Eigenschaften besitzt, doch war die Aeüßerung dieser Intoxikationen gering und sehr inkonstant.

Nachdem wir zu diesen Resultaten gekommen waren, lag die Vermutung nicht fern, daß die toxischen Stoffe, welche von den Lyssaerregern produziert wurden, von der Substanz des Zentralnervensystems resp. den Zellen fixiert werden. Es galt zu versuchen, die nicht fixierten, gewissermaßen überschüssig produzierten Stoffe in Organen zu suchen, deren Zellen vielleicht keine Affinität zu ihnen haben, in welchen also das Gift nicht fixiert vorhanden ist. Bekanntlich läßt sich das Lyssavirus durch das Blut an Lyssa kranker oder verendeter Tiere nicht übertragen. Trotzdem ist es denkbar, daß in der Blutflüssigkeit als Vehikel die in den Krankheitsherden, also im Zentralnervensystem gebildeten toxischen Stoffe im Körper verbreitet werden. Dadurch wäre auch nach unseren Kenntnissen von der Natur der Lyssaerkrankung erst die Möglichkeit gegeben, in solchen Organen, durch deren Verimpfung Lyssa nicht hervorgerufen werden kann, für Lyssa spezifische toxische Stoffe einwandfrei zu finden. Um diese Frage zu beantworten, und in anderen nicht hierher gehörigen Absichten hatte der eine von (H.) uns schon vor längerer Zeit Kaninchen während mehrerer Wochen mit dem Serum von Kaninchen injiziert, die kurz vor dem Exitus an Lyssa total entblutet waren. Die auf solche Weise injizierten Tiere, welche allmählich steigend 1,0—5,0 ccm Lyssaserum subkutan erhielten, zeigten während der Behandlung weder irgend welche Intoxikations- oder Alterationserscheinungen, noch erwiesen sie sich bei späterer Infektion mit Lyssavirus als immun. Rabizide Substanzen waren im Blute dieser Tiere nicht nachweisbar. Soweit sich aus diesen Versuchen folgern läßt, ist anzunehmen, daß sich das Blutserum lyssakranker Tiere von dem Serum normaler Tiere nachweisbar nicht in spezifischer Weise unterscheidet. — Bei der Untersuchung bestimmter Gewebe auf lyssatoxische Stoffe wählten wir wegen der Annehmlichkeit, viel Material zu haben, die Muskulatur an Lyssa verendeter Kaninchen. Die Muskeln wurden steril von den Knochen gelöst, in der sterilen Hackmaschine und im Mörser zerkleinert, mit Quarz und Kiesel-

zur verarbeitet, in der Buchnerschen Presse ausgepreßt, der Saft durch Reichel-Filter filtriert und Kaninchen injiziert. Eine toxische Wirkung ist diesem Preßsaft nicht abzusprechen; für *Lyssa* typische Symptome ließen sich durch die Injektion nicht verursachen. Abmagerung in ähnlicher Weise wie bei den Tieren der oben erwähnten Versuche trat auch hier auf; ein Versuchstier ging nach vorausgehenden geringgradigen Lähmungserscheinungen 10 Tage nach der intravenösen Injektion zu Grunde. Der Sektionsbefund war völlig negativ, desgl. die Kontrollimpfung.

Vor mehreren Jahren gab Ferran an (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. No. 22), daß das Gehirn eines eben an *Lyssa* verendeten Kaninchens toxischer sei, wenn man vor der Herausnahme des Gehirnes den Kopf des Tieres durch Eingießen von 2—3 l sterilisierten Wassers auswäscht. Auf diese Weise sollten vorhandene Antitoxine entfernt werden. Wir haben den Versuch genau nach den Angaben Ferrans geprüft, ohne daß es uns gelungen wäre, die Toxicität der *Lyssagehirne* deutlicher zu zeigen.

Fassen wir die Ergebnisse der vorliegenden Versuche zusammen, so müssen wir zu dem Schlusse kommen:

- 1) Die Gehirnsubstanz an *Lyssa* verendeter Tiere ist toxisch.
- 2) Die Gehirnsubstanz normaler Tiere ist aber auch toxisch.
- 3) Bei den *Lyssagehirnen* äußert sich aber die toxische Wirkung in höherem Maße, und zwar bestehen diese Intoxikationssymptome in Abnahme der Freßlust, Temperatursteigerung, Abmagerung, allgemeiner Depression, welche unter Zunahme des Marasmus und begleitet von Lähmungserscheinungen zum Tode führen kann.
- 4) Bei Wiederholung der Injektionen tritt eine gewisse Gewöhnung ein.
- 5) Eine Immunität gegen *Lyssa* war mit dem unter A—F beschriebenen, nicht infektiösen Material nicht möglich.
- 6) Auch läßt sich nach den unter A—F angegebenen Versuchsarrangierungen aus *Lyssagehirnen* keine für *Lyssa* spezifische toxische Substanz gewinnen.
- 7) Sämtliche erwähnten Vergiftungssymptome treten nicht konstant auf.

Literaturverzeichnis.

- Aurep, Ueber die Ptomäne der Hundswut. (Virchow-Hirsch Jahresbericht. 1889. p. 551.)
- Babes, Aurel, Transactions of the VII. internat. congr. of hyg. 1881. Vol. VIII. p. 24.
- Babes, V., Études sur la rage et sur la vaccination antirabique. Londres (Imprimerie de Eyre et Spottiswoode) 1892.
- , Ueber Wuttoxine. (Festschr. f. E. v. Leyden de. 70. Geburtst. Bd. I d. internat. Beitr. z. inn. Med. Berlin 1902.)
- Babes, V. et Cerchez, Expériences sur l'atténuation du virus fixe rabique. (Annal. de l'Inst. Past. 1891. No. 10.)
- Babes, V. et Lepp, Recherches sur la vaccination antirabique. (Ibid. 1889. No. 7. p. 384—390.)
- De Blasi u. Russo Travali, Ricerche sulla Rabbia. (Bullet. della soc. d'Igiene di Palermo. Anno IV. 1889. No. 11, 12.)
- , Rendiconto delle vaccinazioni profilattiche ed esperimenti eseguiti nell'Istituto antirabbico e di microscopia clinica della città di Palermo. Palermo 1889.
- Ferran, J., Ueber die durch *Lyssagift* im Reinzustande verursachte galoppierende Vergiftung ohne Infektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 961.)

Anm. bei der Korrektur: Nachträglich haben wir noch folgende neuere Arbeiten kennen gelernt:

Remlinger, Contribution à l'étude de la toxine rabique (faits expérimentaux) (faits cliniques). (Compt. rend. de la soc. de biol. T. LVI. 1904. No. 8.)

Barratt, J. O. Wakelin, Note on the disintegration of rabid brain substance. (Proc. royal soc. Vol. LXXII. No. 483. p. 353.)

— —, Centrifugalisation and disintegration in relation to the virus of rabies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. p. 729.)

Nachdruck verboten.

Bemerkung über Cestoden ohne Genitalporus.

[Aus der zoologischen Anstalt der Universität Basel.]

Von C. v. Janicki.

Mit 1 Figur.

Bei Gelegenheit einer Untersuchung über Mäusecestoden stieß ich auf zwei, wahrscheinlich zu verschiedenen Arten gehörende Exemplare des Genus *Hymenolepis* Weinland, die durch den Mangel von Genitalpori ausgezeichnet waren. Der Erhaltungszustand ließ eine genauere Bestimmung nicht zu. In dem einen Fall lagen mir Bruchstücke von zwei Bandwürmern vor (No. 2134 des Berliner zoologischen Museums, „*Taenia* — int. et duct. choledoch. *Muris musculi*, August 1831, Januar 1832 v. Siebold“); eine Anzahl von Kettenstücken war mit normalen Geschlechtsöffnungen ausgestattet. Es ist wohl anzunehmen, daß dieses zweierlei Verhalten eben auf zwei Strobilae sich verteilt. — Die Vagina kommuniziert direkt mit der Oeffnung des Cirrusbeutels mitten im Markparenchym, an einer Stelle, die — bei 0,88 mm Gliedbreite — etwa 0,18 mm vom Rande entfernt liegt (s. Fig.). Der Cirrusbeutel ist recht gut entwickelt und schließt ein gewundenes Endstück des Vas deferens ein. Alle übrigen Organe sind normal ausgebildet; die letzten Glieder führen reife Eier.

Die zweite Form (No. 186/222 des hygienischen Instituts der tierärztlichen Hochschule in Berlin, aus dem Darm von *Mus musculus*) — ich verdanke sie der Freundlichkeit des Herrn Dr. K. Wolffhügel — weist keinen Cirrusbeutel auf; Vagina und Vas deferens gehen, bei einer Gliedbreite von 1,02 mm, 0,39 mm vom Rande entfernt, ineinander über. Leider war der Erhaltungszustand des Wurmes ein außerordentlich schlechter.

Bislang wurde die vollständige Abwesenheit von Geschlechtsöffnungen nur in 2 Fällen beobachtet. Fuhrmann fand diese Eigentümlichkeit bei einem Bandwurm von *Pyrrhura* spec. (Brasilien) und gründete, gestützt auf das Fehlen der Genitalpori, für diese, sonst mit dem Genus *Bertia* R. Blanchard nahe verwandte Form, ein neues Genus, *Aporina*¹⁾. Kürzlich beschrieb Wolffhügel ein Exemplar von *Bertia delafondi* (Railliet) aus der Taube, ohne Geschlechtsöffnungen²⁾. Da in übrigen Eigenschaften dieses abnorme Exemplar mit der typischen Art voll-

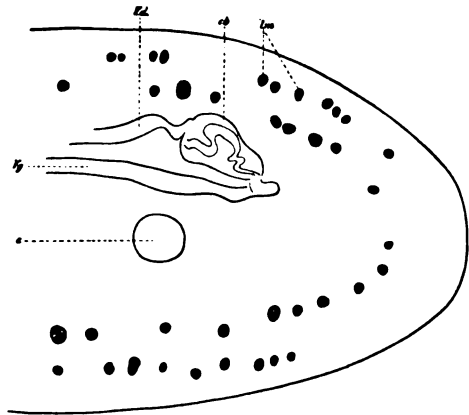
1) O. Fuhrmann, Die Anoplocephaliden der Vögel. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenkunde etc. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)

2) K. Wolffhügel, Ein interessantes Exemplar des Taubenbandwurmes *Bertia delafondi* (Railliet). (Berliner tierärztl. Wochenschr. 1904. No. 3.)

ständige Uebereinstimmung zeigte, so deutet Wolffhügel dasselbe als eine bloße individuelle Abweichung und faßt den Mangel des Geschlechtsporus als das Bestreben Selbstbefruchtung einzuführen auf. Mit dieser Deutung wird eigentlich dem Genus *Aporina* Fuhrmann die Berechtigung abgesprochen, wenn es auch Wolffhügel in seiner Arbeit nirgends deutlich ausgedrückt hat.

Die gelegentliche Abwesenheit der Genitalpori auch innerhalb des Genus *Hymenolepis* ist geeignet, die Auffassung von Wolffhügel endgültig zu bekräftigen und zu verallgemeinern. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Fehlen des Porus genitalis lediglich eine individuelle Variation darstellt; systematischer Wert kommt dieser Eigenschaft nicht zu. Das Genus *Aporina* Fuhrmann ist somit zu streichen.

In dem Wolffhügel'schen Exemplar von *Bertia delafondi* fehlte der Cirrusbeutel gänzlich. Bei einem früher von v. Linstow beschriebenen Exemplar derselben Art¹⁾ war die Rückbildung insofern weniger weit vorgeschritten, als männliche und weibliche Leitungswege — im Gegensatz zum erstgenannten Fall — den Porus genitalis erreichten, wohl aber war das männliche Kopulationsorgan in der Entwicklung weit zurückgeblieben. In der Fuhrmann'schen *Aporina alba* war der Cirrusbeutel sehr schwach entwickelt. Der hier angeführte Fall von *Hymenolepis species* (No. 2134 der Berliner Sammlung, s. Fig.) zeigt die stärkste Entwicklung des Cirrusbeutels beim mangelnden Porus.



Hymenolepis species (No. 2134 Berl. Mus.).
Teil eines Querschnittes. *cb* Cirrusbeutel, *e* Exkretionsgefäß, *lm* Längsmuskulatur, *vd* Vas deferens, *vg* Vagina.
Vergrößerung 200.

1) v. Linstow, Beobachtungen an Vogeltänien. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenkunde etc. Bd. XII. 1892.)

Nachdruck verboten.

Ueber die toxische Wirkung einiger Organextrakte. Anatomische und histologische Beobachtungen.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität Turin, Prof. Perroncito (Abteilung geleitet von Prof. Dr. A. Bruschetti).]

Von Dr. **Giovanni Ghedini**.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Schilddrüse: Otrikel überaus erweitert. Fast alle nehmen das Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 8⁺, K.) ein. Viele $\frac{2}{3}$ des Gesichtsfeldes (Ok. 4, Obj. 5, K.) (Fall II). Voll von Kolloidsekret, zwischen dem einige gewucherte oder abgestoßene Drüsenzellen. Diese letzteren sind übrigens normal beschaffen, zwischen denselben einige Zellen von Langendorff: das Bindegewebe und die Gefäße auch normal.

Thymus, Pankreas: Unverändert.

Milz: Erhebliche Wucherung in den Follikeln, welche im allgemeinen das Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) einnehmen. Einige Plasmazellen an ihrer Peripherie. In der Pulpa verschiedene kleine Haufen von Plasmazellen und Pseudoplasmazellen — viele Megakaryocyten (Fälle I und II). Spärliche rote Blutkörperchen und pigmenthaltige Zellen. Bindegewebe und Gefäße normal.

Leber: Viele Zellkerne verschwunden oder atrophisch. Das Protoplasma im allgemeinen zerfallen und gelockert bei den Fällen I und III; vollkommen vakuolisiert beim Fall II. Die Osmiumreaktion für das Fett sehr spärlich positiv, die Glykogenjodreaktion negativ. Kleine Haufen von Lymphocyten um die Gefäße herum (Fälle I und II). Interstitielle Räume breit und an roten Blutkörperchen und deren Detriten reich bei den Fällen I und III. Bindegewebstrabekeln normal. Gefäße mäßig blutüberfüllt bei den Fällen I und III.

Nebennieren: Schwache Blutüberfüllung der Marksubstanz im Falle II.

Nieren: In der Rinde viele Kerne der die gewundenen Kanälchen und die Henleschen Schleifen bedeckenden Zellen verschwunden oder atrophisch, das Protoplasma derselben körnig-trüb und häufiger zu einem unförmlichen Detritus reduziert (Fall I und III). Exsudatflocken im Kanälchenlumen. Bei dem Falle I und III ausgedehnte Zonen von perikanalikulärer und glomerulärer Lymphocyteninfiltration; die Kanälchen und Glomeruli sind bloß an der Peripherie des Prozesses ziemlich erhalten. Gefäße und glomeruläre Schleifen blutüberfüllt, besonders bei den Fällen I und III. Rote Blutkörperchen und Detriten in den Interstitien der Kanälchen. Bindegewebe unverändert. In den gut beschaffenen Pyramiden Blutüberfüllung und beim Falle I einige kleine Herden kleinzelliger Infiltration.

Hoden: In den Samenkanälchen befinden sich normalerweise die Sertolischen Stützellen und die zwei bis drei übereinander gelagerten Schichten der runden oder polyedrischen Hodenzellen mit tätigen Kernen; in das Lumen des Kanälchens ragen zahlreiche Spermatozoenschwänze hinein. Normal sind auch die geraden Kanäle, die das Hallersche Netz

zusammensetzenden Kanälchen, die efferenten Kegel und der Kanal des Nebenhodens. Ebenso das Stützbindegewebe und die Blutgefäße.

Ovarien: Unverändert. Beim Falle II bemerkt man in der Rindensubstanz der Drüse verschiedene Haufen von Zellen, welche man wegen ihrer polygonalen Konturen, wegen des glasartigen und ein wenig vakuolisierten Aussehens ihres Protoplasmas, wegen ihres großen zentral gelegenen Kernes, wegen ihrer Anordnung nach den Rindenzellen der Nebennieren als aus versprengten Embryonalkeimen¹⁾ herstammend halten kann.

Versuch IV über den Nebennierenextrakt (Meerschweinchen).

Alter und Geschlecht	Behandlungsdauer	Injektionszahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksamen Substanz	Bemerkungen
Hündin A vom 21. Jan. bis 4 kg bis 18. Febr.		12	Von 6 bis 12 ccm	108 ccm	Von 0,30 bis 0,60 g	5,40 g	Diese vier Hunde zeigten nach jeder Injektion Erscheinungen der Erregung u. d. Schmerzes an der Einspritzungsstelle. Auf diese Periode folgte n. ca. $\frac{1}{2}$ Std. eine andere Periode, in welcher sie matt, schläfrig u. zitternd, als ob sie frören, erschienen. Sie gingen alle allmählich, aber deutlich ein
Hündin B vom 7. April bis 7 kg bis 16. Mai		16	von 10 bis 15 ccm	200 ccm	von 0,50 bis 1,20 g	14 g	
Hündin C vom 28. Mai bis 6,5 kg bis 16. Juli		21	von 10 bis 20 ccm	320 ccm	von 0,50 bis 0,80 g	14 g	
Hündin D vom 28. Mai bis 10 kg bis 22. Juli		24	von 10 bis 20 ccm	420 ccm	von 0,80 bis 1 g	18 g	

Anatomischer Befund:

Ernährung: Heruntergekommen.

Oedem unter die Haut: Mäßig bei drei Fällen.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Groß wie Nüsse; rotbraune Schnittfärbung.

Schilddrüse: Ein wenig mehr konsistent als normal.

Herz, Lungen, Magen, Darm, Pankreas: Unverändert.

Milz: Pulpa sehr braun im Falle III; deutliche Hypertrophie der Follikel.

Leber: Tiefrot, mit bräunlichen, glänzenden Herden.

Nebennieren: Größe, Konsistenz, Farbe unverändert.

Nieren: Bleiche Rinde, mit gelblichen und rötlichen, glänzenden Streifen.

Gehirn: Nervensubstanz wachsweiß (anämisch). In den Ventrikeln die klare, strohgelbliche Flüssigkeit ein wenig vermehrt.

1) Ich glaubte, zweckmäßig diesen zufälligen Befund kurz zu erwähnen, da es vielleicht jemandem, der sich mit diesem Gegenstande beschäftigt, interessant sein könnte. Ebenfalls deswegen füge ich hinzu, daß ich auch bei einem Ovarium einer Frau, das ich im vergangenen Schuljahre in dem pathologisch-anatomischen, von Herrn Prof. Foà geleiteten Institute untersuchte, denjenigen der Nebennieren vollkommen ähnliche Zellen gefunden habe, die tatsächlich auch als solche diagnostiziert wurden. Die Bedeutung des Befundes nahm wegen der Gegenwart von zwei kleinen serösen Cysten im Ovarium zu, deren Genese sich wahrscheinlich an den genannten eingeschlossenen, gewucherten und umgewandelten Zellen anknüpft.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und der Inguinalgegend): In den Follikeln und in den Strängen erhebliche Lymphocytenwucherung (Fälle II, III, IV); die ersten nehmen $\frac{2}{3}$ Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. Besonders in den Strängen: Zahlreiche Plasmazellen und Pseudoplasmazellen, blutpigmenthaltige und blutkörperchenhaltige Zellen, freies Blutpigment. In den sehr erweiterten Lymphräumen: Lymphocyten, Leukocyten, von denen sich einige in Karyokinesis befinden, Megakaryocyten (Fall I), zahlreiche pigmenthaltige und körperchenhaltige Zellen, Hämosiderin. Hyperplastische Bindegewebstrabekeln im Falle III. Gefäße normal.

Schilddrüse: Follikel sehr erweitert, besonders im Falle III und IV. Viele nehmen noch mehr als das Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 8, K.) ein. Alle voll von Kolloidsekret. Drüsenepithelien, Bindegewebe und Gefäße normal. Ebenso auch die supranumerären Nebenschilddrüsen, welche im Falle IV beobachtet wurden.

Herz, Lungen, Pankreas: Unverändert.

Im Fall III Milz deutliche, in den übrigen drei Fällen mäßige Lymphocytenwucherung. Die Plasmazellen spärlich. In der Pulpa beachtenswert die Megakaryocyten und die große Zahl der roten Blutkörperchen im Falle III; in den anderen Fällen sind diese letzteren spärlicher, ihre Detriten aber und die pigmenthaltigen Zellen sind auch zahlreich vorhanden. Bindegewebe normal. Gefäße nur im Falle III blutüberfüllt.

Leber: In den ersten zwei Fällen Zellen mit körnigem Protoplasma. In den Fällen III und IV viele Kerne verschwunden und atrophisch — an der Peripherie der Läppchen totale, am Zentrum weniger intensive Vakuolisierung des Protoplasmas. Wenige schwarze Fettkörnchen im Protoplasma bei den Schnitten der in Flemmingscher Flüssigkeit fixierten Stücke. Negativ die Weigertsche Reaktion für das Fibrin wie jene von Langhans für das Glykogen. Bloß im Falle IV kleine isolierte Herde von leukocytärer Infiltration um die Blutgefäße herum. Interstitielle Räume reich an roten Blutkörperchen und Pigment in den Fällen I und IV, weniger in den beiden anderen. Gefäße blutüberfüllt in den Fällen I und IV. Bindegewebe normal.

Nebennieren: Die unregelmäßig polyedrischen Rindenzellen mit glasartigem vakuolisierten Protoplasma ordnen sich an wie normalerweise, um die drei Schichten: Zona glomerulosa, fascicularis und reticularis zu bilden. Die Marksubstanz zeigt auch ihre Zellen mit eckigen verzweigten Konturen in guter Ordnung. Keine Karyokinesis. Freie rote Blutkörperchen zwischen den Elementen (kleine Hämorrhagieen). Gefäße mäßig überfüllt in den Fällen I, II, IV. Bindegewebe normal.

Nieren: In der Rinde zeigen die geraden und gewundenen Kanälchen viele ihrer Epithelien kernlos; mit trübem Protoplasma und häufiger ohne Grenze und zerfallen. Die Osmiumreaktion weist deutlich große, dichte, schwarze Fetttropfen in der Mehrzahl der genannten Kanälchen (Fall III) nach; bei den anderen sehr feine Tröpfchen im Protoplasma. Negativ die Reaktion von Weigert für das Fibrin. Im Lumen der Kanälchen und zwischen der Schleife und der Kapsel einiger Glomeruli (Fälle II und III) Exsudatflocken. Blutgefäße und glomeruläre Schleifen ausgedehnt und voll von Blut. In den interkanalikulären Räumen frei rote Blutkörperchen und Detritus derselben. Pyramiden bloß blutüberfüllt. Bindegewebe unverändert.

Ovarium und Hoden: Nichts Bemerkenswertes.

Gehirn: Die Nervenzellen, die Fasern und die Neurogliazellen

zeigen keine Veränderung. In den ersten drei Fällen die Lymphräume um die Zellen herum sehr erweitert (Oedem).

Versuch V über den Schilddrüsenextrakt (Meerschweinchen — Kalb).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behandlungsdauer	Injektionenzahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksamen Substanz	Bemerkungen
Hund A Gew. 6 kg	Vom 21. März bis 23. April	15	Von 10 bis 20 ccm	230 ccm	Von 0,30 bis 0,60 g	7 g	Erhält sich in mäßig guten Zuständen
Hund B Gew. 9 kg	vom 9. April bis 23. Mai	19	von 10 bis 20 ccm	310 ccm	von 0,30 bis 0,60 g	9,40 g	magert ab u. zeigt sich matt nach der Injektion
Hund C Gew. 5,5 kg	vom 26. Mai bis 14. Juli	22	von 15 bis 30 ccm	530 ccm	von 0,50 bis 1 g	18 g	magert ab
Hund D Gew. 20 kg	vom 19. Mai bis 22. Juli	29	von 20 bis 40 ccm	830 ccm	von 0,60 bis 1,50 g	27 g	zeigt sich ein wenig matt nach der Injektion

Anatomischer Befund:

Ernährung: Etwas heruntergekommen.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Schwanken zwischen der Größe einer Haselnuß und jener eines kleinen Taubeneies, braungelblich und sehr feucht an der Schnittfläche.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: Größer als normalerweise, besonders im III. Falle.

Beim Schneiden fließt die Kolloidsubstanz aus.

Herz, Lungen, Magen, Darm, Pankreas: Unverändert.

Milz: Nicht an Größe vermehrt. Die Follikel sehr hypertrophisch.

Leber: Einige blaßgelbliche Herde.

Nebennieren: Unverändert.

Nieren: Kapsel abziehbar. Die Venulae stellatae blutüberfüllt. In der seziierten Rinde gelbliche, glänzende, mit rötlichen, alternierenden Streifen. Marksubstanz unverändert.

Geschlechtsorgane und Gehirn: Unverändert.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und der Inguinalgegend): Erhebliche lymphocytäre Wucherung in den Follikeln und Strängen der Fälle I und II, die ersten nehmen ca. $\frac{1}{2}$ Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. Insbesondere in den Strängen: zahlreiche Plasmazellen und pigmenthaltige Zellen. In den sehr erweiterten Lymphräumen (Fall I, III, IV) Lymphocyten, Leukocyten, Häufchen von Plasmazellen, hämopigmenthaltige und blutkörperchenhaltige Zellen, freies Blutpigment, abgestoßene Endothelien. In den Fällen I und IV hyperplastische Bindegewebestrabekeln. Gefäße normal.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: In den zwei Fällen II und IV sehr erweiterte Follikel. Viele nehmen das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. In den Fällen I und III weniger ausgedehnte, aber zahlreichere kleine neugebildete Follikel. Zwischen den Epithelien einige mit durchsichtigen Tropfen im Protoplasma (Langendorfsche Zellen). Bindegewebestrabekeln und Blutgefäße normal.

Pankreas und Hoden: Unverändert.

Milz: Intensive lymphocytäre Wucherung in den Malpighischen Follikeln, deren Mehrzahl, besonders in den ersten 3 Fällen, das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) einnehmen und es sogar überschreiten. An der Peripherie zahlreiche Plasmazellen. In der Pulpa außer den gewöhnlichen Leukocyten und Lymphocyten und im Falle I Megakaryocyten, Häufchen von Plasmazellen und Pseudoplasmazellen, rote Blutkörperchen und Detritus derselben in großer Menge, pigmenthaltige Zellen. Mäßige Bindegewebshyperplasie. Das Tigrische Netz normal. Im Falle IV blutüberfüllte Gefäße.

Leber: Im Falle III unvollkommener Zerfall des Zellprotoplasmas. In den übrigen drei: viele Zellkerne verschwunden oder atrophisch, nur bei einigen Zellen, nämlich bei den zentralen des Läppchens, ist das Protoplasma ziemlich erhalten, entweder ist es in einen einfachen körnigen Detritus umgewandelt oder mit mäßiger Lockerung, in der Mehrzahl aber völlig vakuolisiert.

Sehr spärlich ist die Osmiumreaktion für das Fett, negativ diejenige für das Glykogen und das Fibrin. In den Fällen I und III schwache, kleinzellige Infiltration um die Gefäße herum. In den interstitiellen Räumen rote Blutkörperchen und deren Detritus. Schwache Hyperplasie bei einigen Bindegewebstrabekeln im Falle I. Gallengänge normal. Blutgefäße überfüllt im Falle IV, mäßige Ausdehnung in den übrigen.

Nebennieren: In den ersten drei Fällen unverändert. Im Falle IV Gefäße ein wenig blutüberfüllt und punktförmige Hämorrhagien.

Nieren: In der Rinde sind selten die unversehrten Kanälchen, bei fast allen gewundenen Kanälchen und bei den Henleschen Schleifen sind die Zellkerne verschwunden; das Protoplasma der Epithelien entweder trüb und körnig oder noch häufiger entstellt und flockig. Die Osmiumreaktion zeigt bei den gewundenen Kanälchen dichte, große, schwarze Fetttropfen. Negativ diejenige für das Fibrin. In den Fällen I und IV Herde lymphocytärer Infiltration, deren einige klein, andere mehr ausgedehnt sind; die von dem Prozesse mitergriffenen Kanälchen und Glomeruli sind ziemlich gut erhalten, im Zentrum aber sind sie

Versuch VI über den Thymusextrakt (Kalb).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behandlungsdauer	Injektionszahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksamen Substanz	Bemerkungen
Lamm A Gewicht 4 kg	Vom 8. März bis 30. April	24	Von 6 bis 20 ccm	363 ccm	Von 0,30 bis 0,50 g	11 g	Diese drei Lämmer zeigten sehr langsame u. mangelhafte Entwicklung, wofür die Zahlen des entsprechenden Gewichtes am Ende des Versuches beweisen: Lamm A 5,900 kg " B 6,0 " " C 6,400 " Ein ca. um die Hälfte kleineres Gewicht als das welches man gewöhnlich bei Lämmern desselben Alters beobachtet, d. h. nämlich 4 oder 5 Monate alt sind
Lamm B Gewicht 4,3 kg	vom 8. März bis 21. Mai	32	von 6 bis 40 ccm	670 ccm	von 0,30 bis 1 g	19 g	
Lamm C Gewicht 4,5 kg	vom 5. Juni bis 28. Juli	22	von 20 bis 40 ccm	760 ccm	von 0,50 bis 1 g	18,50 g	

sehr zusammengedrückt. Blutgefäße und glomeruläre Schleifen sehr überfüllt. In den interkanalikulären Räumen rote Blutkörperchen. In der Marksubstanz merkt man nur Blutüberfüllung, im Falle I aber auch erhebliche Bindegewebshyperplasie.

Anatomischer Befund:

Ernährung: Heruntergekommen.

Skelettentwicklung: Sehr verlangsamt.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Groß, wie Nüsse mit Schale. Die gelblich-rote Schnittfläche ist durch reichliche Lymphe feucht.

Speicheldrüsen und Schilddrüse: Unverändert.

Thymus: Die Größe ca. um die Hälfte kleiner als normal. Der Ersatz eines großen Teiles des Parenchyms durch Bindegewebe ist besonders im Falle I sehr deutlich.

Herz, Lungen, Pankreas, Nebennieren: Unverändert.

Milz: Farbe ziegelrot; die Follikel mäßig hypertrophisch. Im Falle II ist die Kapsel verdickt.

Leber: Nichts Bemerkenswertes.

Nieren: Kapsel abziehbar. Gefäße blutüberfüllt. Am Schnitte der Rinde gelbliche glänzende und rötliche Streifen.

Knochenmark: Farbe himbeerrot. Konsistenz weich, zerdrückbar, gallertig.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Lebhaft lymphocytäre Wucherung in den Follikeln und den Strängen; die ersten nehmen das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. Lymphräume erweitert, die außer den gewöhnlichen Zellen, Endothelien, spärliche pigmenthaltige Zellen, spärliches Hämosiderin, Plasmazellen und Pseudoplasmazellen, Bindegewebsfasern enthalten. Bindegewebstrabekeln und Gefäße unverändert.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Schilddrüse: Mäßige Ausdehnung der Follikel, die die Hälfte bis das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 8+, K.) einnehmen können. Alle sind von Sekret voll, in dessen Innerem häufig die gewucherten und ausgestoßenen Epithelien zu sehen sind. Drüsenzellen, Bindegewebe und Gefäße normal.

Milz: Nur bei den Fällen II und III mäßige lymphocytäre Wucherung der Follikel; die größten erreichen $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ des Gesichtsfeldes (Ok. 4, Obj. 5, K.). In der Pulpa bei allen drei Fällen zahlreiche Haufen von Plasmazellen und Pseudoplasmazellen, bei den zwei letzteren sehr reichliche rote Blutkörperchen und Detritus derselben. Auch bei den letzteren überfüllte Gefäße. Bindegewebe immer normal.

Leber: Mäßiger Zerfall des Zellprotoplasmas; viele Zellkerne verschwunden oder atrophisch im Falle II. Herde kleinzelliger Infiltration um die Gefäße herum und zerstreut, die besonders im Falle II deutlich auftreten. In den interstitiellen Räumen rote Blutkörperchen und Detritus derselben. Bindegewebe unverändert. Gefäße ein wenig überfüllt.

Nebennieren: Unverändert.

Nieren: In der Rinde besonders die gewundenen und geraden Kanälchen verletzt, deren Epithelien teilweise der Kern fehlt, und das Protoplasma derselben ist entweder körnig zerfallen oder ohne Konturen. Gefäße und glomeruläre Schleifen sehr erweitert. Viele freie, rote Blut-

körperchen in den interkanalikulären Räumen. Marksubstanz nur blutüberfüllt. Bindegewebe normal.

Thymus: Die Follikel erscheinen sehr zurückgegangen. Doch bestehen sie normalerweise aus runden Zellen mit sehr spärlichem Protoplasma und sehr färbbarem zentral gelegenen Kern (Lymphocyten). Sie drängen sich dicht zusammen an der Peripherie, indem sie die Rinde bilden, und ordnen sich selten an im Zentrum, wo sie die Marksubstanz des Follikels zusammensetzen. Zwischen dieser letzteren zahlreiche runde oder eirunde Körperchen, welche aus zwei oder drei großen Zentralzellen bestehen, die von flachen, konzentrisch geschichteten Zellen umgeben werden (Hassalsche Körperchen). Im I. Falle starke, in den zwei letzteren schwächere Hyperplasie des Stützbindegewebes. Gefäße unverändert.

Ovarien: Normal.

Knochenmark: Besteht aus einer Masse, die bei kleiner Vergrößerung homogen, bei stärkerer, aber fein fibrillär aussieht, von Eosin rötlich, von der van Giesonschen Pikrinsäure strohgelblich und an vielen Stellen vom Sudan III ziegelrot gefärbt erscheint (Schleimbindegewebe und Gruppen von Fettzellen), aus im allgemeinen kernlosen roten Blutkörperchen, aus Lymphocyten, Leukocyten mit polymorphem (großem und klarem, kommaartigem, wurstartigem) Kerne, mehrkernigen Leukocyten, aus Leukocyten, deren Protoplasmagranula sich mit dem Eosin lebhaft färben (Eosinophilen), aus einigen Zellen mit großem exzentrischen Kerne, mit breitem Protoplasmamantel, mit etwas unregelmäßigen Konturen, in welchen gelbliche, glänzende Körnchen zerstreut sind (Fettzellen). An den beobachteten Präparaten werden weder die Ranvier'schen Myeloplaxen noch ihre Uebergangsformen wahrgenommen. Gefäße normal.

Versuch VII über den Nervensubstanzextrakt (Meerschweinchen).

Tiere und entsprech. Gewicht	Behandlungsdauer	Injektionszahl	Extraktmenge pro Injektion	Gesamte Extraktmenge	Menge der wirksamen Substanz pro Injektion	Gesamte Menge der wirksamen Substanz	Bemerkungen
Hund A Gew. 8 kg	Vom 5. März bis 3. Juni	31	Von 20 bis 40 ccm	1060 ccm	Von 0,50 bis 1 g	24 g	Der Ernährungsstand kam herunter.
Hündin B Gew. 2,5 kg	vom 17. April bis 30. Mai	18	von 15 bis 30 ccm	440 ccm	von 0,40 bis 0,75 g	10,50 g	ebenso
Hund C Gew. 9 kg	vom 3. Juni bis 27. Juli	25	von 20 bis 30 ccm	680 ccm	von 0,50 bis 0,75 g	15 g	kam nicht herunter
Hündin D Gew. 4 kg	vom 3. Juni bis 27. Juli	23	von 15 bis 30 ccm	520 ccm	von 0,40 bis 0,75 g	13,40 g	erhielt sich immer sehr lebhaft, magerte aber ein wenig ab

Anatomischer Befund:

Ernährung: Etwas heruntergekommen.

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Groß wie Nüsse die Achseldrüsen, kleiner die Inguinaldrüsen. Schnittfläche rotbraun; fließende Lymphe.

Speicheldrüsen: Unverändert.

Nieren: Kapsel abziehbar, die Venulae stellatae blutüberfüllt, Rinde undurchsichtig, blaß, Konsistenz vermindert, am Schnitte gelbe, glänzende, von rötlichen alternierte Streifen.

Geschlechtsapparat: Unverändert.

Gehirn: Die Pia, die subarachnoidealen Räume, die graue und weiße Substanz, die Ventrikel zeigen keine abnormen Veränderungen sowohl im Aussehen wie im Inhalt.

Mikroskopischer Befund:

Lymphdrüsen (der Achselhöhle und Inguinalgegend): Erhebliche lymphocytäre Wucherung in den Follikeln und Strängen; die ersten nehmen beinahe das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) ein. In den erweiterten Strängen und Lymphräumen Blutpigment, pigmenthaltige und körperchenhaltige Zellen, Bindegewebsfasern, Plasmazellen und Pseudoplasmazellen. In den drei letzteren Fällen (besonders Fall IV) Hyperplasie der Bindegewebstrabekeln. Gefäße unverändert.

Schilddrüse: Die Follikel nehmen das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 8⁺, K.) bei den drei letzteren Fällen ein. Sie sind alle voll von Sekret. Epithelien, Gefäße, Bindegewebe unverändert.

Milz: Lymphocytenwucherung in den Malpighischen Follikeln, welche beinahe das ganze Gesichtsfeld (Ok. 4, Obj. 5, K.) einnehmen. In der Pulpa außer den gewöhnlichen Zellen zahlreiche Plasmazellen und Pseudoplasmazellen, pigmenthaltige Zellen, sehr reichliche rote Blutkörperchen und Detritus derselben, hauptsächlich in den drei ersten Fällen.

Leber: Viele Zellkerne verschwunden oder atrophisch. Protoplasma vakuolisiert und gelockert, besonders in den Fällen I, III, IV. Die Osmiumreaktion selten positiv. Negativ jene von Weigert für das Fibrin und fast negativ jene von Langhans für das Glykogen. Im Falle III kleine lymphocytäre Infiltrationsherde um die Gefäße herum. Die interstitiellen Räume von zahlreichen roten Blutkörperchen und deren Detritus ausgefüllt. Ausgedehnte und blutvolle Gefäße bei den drei letzteren Fällen. Bindegewebe unverändert.

Nebennieren: In der Rinde sind wenige gewundene und gerade Kanälchen unverletzt. Die Mehrzahl derselben haben viele kernlose Epithelien und alle trübes und körniges Protoplasma (besonders Fall I) oder Detritus desselben. Die Osmiumreaktion zeigt in den Kanälchen große schwarze Fetttropfen. Negativ ist diejenige von Weigert für das Fibrin. Exsudat im Lumen der Kanälchen und in den Glomerulis. Im I. Falle zahlreiche und breite, in den anderen sehr kleine Herde kleinzelliger Infiltration um die Kanälchen und die Glomeruli herum. Gefäße und glomeruläre Schleifen blutüberfüllt. In den Räumen zwischen den Kanälchen rote Blutkörperchen und Detritus derselben. Marksubstanz bloß hyperämisch, nur im Falle I einige kleine Infiltrationsherde. Bindegewebe immer normal.

Gehirn, Kleinhirn, Rückenmark: Weder in den Schnitten, die aus mit Formalin oder Zenckerscher Flüssigkeit fixierten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Stücken, noch in denjenigen, die aus mit absolutem Alkohol fixierten und mit Thionin und Phenolblau gefärbten Stücken, noch in denjenigen, die aus nach dem langsamen Golgischen Verfahren mit Silberchromat behandelten Stücken herkommen, kann man irgend eine Veränderung der Zahl, der Ordnung, der Beschaffenheit der Nervenzellen beobachten, deren Protoplasma, Kern, protoplasmatische und Achsencylinderausläufer vollkommen normal sind. Gleichfalls sind die Fasern und die Neuroglia und die Blutgefäße normal.

Diagnose und Pathogenese.

Nachdem wir beschrieben haben, was bei der anatomischen und mikroskopischen Untersuchung beobachtet wurde, nehmen wir uns jetzt vor, die pathologisch-anatomische Diagnose zu erörtern und zu bestimmen, sowie die Genese der aufgetretenen Läsionen zu untersuchen¹⁾.

In Bezug auf die Achsel- und Inguinallymphdrüsen zunächst: Die erhebliche Atrophie, der Reichtum an Lymph, die Hyperplasie der Follikel und Stränge, der Reichtum an Plasmazellen²⁾, die Erweiterung und der Inhalt der Lymphräume und häufig auch die Bindegewebshyperplasie und Gefäßkongestion zwingen mit Sicherheit zu folgender Diagnose: Katarrhalische, hyperplastische Lymphadenitis.

In Bezug auf die Schilddrüse: Die Hypertrophie, die Hyperplasie der Epithelien (Torri), die Gegenwart zahlreicher Kolloidzellen, die auch nach Langendorff genannt sind, die reichliche Kolloidsubstanz in allen Follikeln, die übertriebene Erweiterung von vielen derselben, die Entwicklung von anderen neugebildeten stellen auch sicher die Diagnose von hyperfunktionierender Schilddrüse.

Bezüglich der Milz: Die Hyperämie, die Hypertrophie und Hyperplasie der Malpighischen Follikel, die sehr zahlreichen Plasmazellen und die vielen Megakaryocyten (bei verschiedenen Fällen) begründen zweifellos die Diagnose: hyperplastische follikuläre Milzentzündung.

In Bezug auf die Leber sind die Merkmale des Prozesses nicht gleichfalls klar. In der Tat würden die mäßige Hyperämie, die lymphocytären Infiltrationen und bei sehr seltenen Fällen die Bindegewebswucherung, die die Veränderungen der Leberzellen begleiten, zu der Annahme führen, daß der gesamte Vorgang entzündlicher Natur wäre. Da aber diese Zellenveränderungen sehr schwer und ausgebreitet, mit schwachen oder wohl abwesenden Entzündungserscheinungen auftreten, so ist vielmehr daran zu denken, daß sie größtenteils davon unabhängig sind, obwohl sie gemeinsame Herkunft haben.

Was aber ihre Natur betrifft, sind wir überzeugt, daß sie, da die Reaktionen von Langhans und von Weigert negativ und diejenige von Flemming schwach positiv ausgefallen sind, weder von Glykogenanhäufung noch von Fibrinbildung, wie die Ergebnisse der neueren Untersuchungen von Herrn Prof. G. Galeotti (Fibrinbildung infolge

1) Die hier aufgestellten Diagnosen unterscheiden sich nicht wesentlich von jenen, die in der vorläufigen Mitteilung schon formuliert wurden. Eine strengere und übersichtliche, vor allem ausgedehntere Beobachtung von Präparaten und Fällen, die nur am Ende der Versuche möglich war, änderte jedoch ein wenig, wie man sehen wird, unsere Erklärung der bei der Leber und Niere beobachteten Läsionen.

2) Ueber die Herkunft der Plasmazellen sind noch heute die Diskussionen abweichend (Ribbert, Marchand, Borst, Pappenheim, Foà, Marschalkó, Enderlen und Justi); bezüglich ihrer Bedeutung ist es aber festgestellt, daß sie, wenn ihre Zahl zugenommen, die Reaktion des Organs (Milz, Lymphdrüsen), zu dem sie gehören, einen erregenden Entzündungsreiz bedeuten. Sie treten daher vermehrt auf in der nach Infektion, nach Intoxikation oder durch andere Ursachen (schwere Anämien) hyperfunktionierenden Milz. Analoge Bedeutung besitzen auch die Megakaryocyten, die wir oft in den hyperfunktionierenden Milzen unserer Tiere zahlreich gefunden haben. Für ausführlichere Kenntnisse in Bezug auf die Frage verweise ich auf die vorzügliche Arbeit von Herrn Prof. Foà: „Ueber die Zellenbildung bei der Entzündung und anderen analogen Prozessen, besonders in Bezug auf die Bildung der Plasmazellen.“

der Berührung von Epithelialzellen mit Lösungen von aus tierischen Geweben ausgezogenen Nukleoproteiden) annehmen lassen könnten, noch von Fettdegeneration des Protoplasmas abhängig sind, sondern daß sie dagegen bei den leichteren Fällen von Zerfällen und Lockerungen, und bei den schwersten von gänzlichen Vakuolisierungen bis zur totalen Vernichtung desselben (Protoplasmyse) infolge von Kolliquationsnekrose (Buchner) bedingt sind. Wir glauben daher, folgende Diagnose aufstellen zu können: Vakuoläre parenchymatöse Entartung der Leber mit Entzündungserscheinungen¹⁾.

In der Niere würde ebenfalls die deutliche, immer vorhandene Gefäßkongestion, das Exsudat in den Kanälchen und Glomerulis, die Herde von der die Epithelialveränderungen begleitenden lymphocytären Infiltration dem pathologischen Vorgange einen entzündlichen Charakter verleihen. Aus den schon erwähnten Gründen aber nehmen wir nicht an, daß die Läsionen der Drüsenzellen mit den Entzündungserscheinungen eng verbunden sind; diese Läsionen sind dann entweder von trüber Schwellung oder (in der Mehrzahl der Fälle) von von der speziellen Reaktion nachgewiesener Fettentartung bedingt. Diese letztere ist typisch anders als jene, die in der Leber vorgefunden ist; die verschiedene Reaktion auf eine und dieselbe Ursache kann aber nicht wunder nehmen, wenn man den Unterschied ins Auge faßt, welcher zwischen den Funktionen der beiden Organe und daher zwischen ihren Zellen besteht²⁾.

Diagnose: Parenchymatöse Fettentartung der Niere mit Entzündungserscheinungen.

Ueber das Knochenmark und die Thymus der drei mit dem letzteren Organe behandelten Lämmer beschränken wir uns darauf, zu sagen, daß wir die schleimige oder gallertige Entartung des Knochenmarkes und die Abnahme der lymphatischen Pulpa und die Bindegewebshyperplasie der Thymus eher für Folgen des allgemeinen Eingehens als der direkten Wirkung des Extraktes (auf Grund gesammelter Kontrollergebnisse und theoretischer Kenntnisse) halten; daher glauben wir wohl, denselben keine besondere Achtung schenken zu müssen.

Es liegt uns dagegen sehr daran, bezüglich des Blutes der behandelten Tiere zu erwähnen, daß, obwohl wenige beobachtete Präparate und wenige mit dem Hämoglobinometer ausgeführte Untersuchungen vorhanden sind, jedoch das beständige Vorhandensein von Detritus roter Blutkörperchen, von Blutpigment, von blutpigmenthaltigen, blutkörperchenhaltigen Zellen in den Lymphdrüsen, in der Milz, in der Leber, in der Niere, im Gefäßsystem, sowie die Ergebnisse von anderen³⁾ bei ähnlichen

1) Um besser die Wichtigkeit dieser Degenerationsläsionen der Leber hervorzuheben, ist es wohl gut, daran zu erinnern, daß die Hunde ein gegen toxische Ursachen außerordentlich widerstandsfähiges Leberparenchym besitzen, so daß sie von den Forschern, die die Wirksamkeit derselben untersuchen wollen, fast nie gebraucht werden. Was aber ihre Natur anbelangt, bemerke ich, daß meine Ergebnisse mit denjenigen, welche die Herren Prof. Foà und Galeotti mit verschiedenen, direkt auf die Epithelialzellen gebrachten Nukleoproteiden erzielten, zusammenfallen (siehe weiter unten).

2) Dr. G. Guerrini hat in dem Leberparenchym von mit Lebernukleoproteiden intraperitoneal behandelten Hunden bei den schwersten Fällen Nekrose und auch körnige Fettentartung bekommen, was beweist, daß auch gleiche Zellen auf dieselben Ursachen in verschiedener Weise reagieren können.

3) Tarassévitch fand die Milz-, Epiploon-, Mesenterialganglienextrakte hämolytisch, Shibayama diejenigen von Milz und Lymphdrüsen, Klein denjenigen vom Pankreas, Korschun und Morgenroth und Levaditi diejenigen von vielen anderen

Untersuchungen sicherstellen, daß die injizierten Substanzen eine deutliche Wirkung auf das Blut, in welchem sie zirkulieren, ausüben. Diese Wirkung ist hauptsächlich (da wir nicht in Betracht ziehen wollen, was in einer ganz besonderen Weise die Nukleoproteide betrifft, welche nach Woodbridge und Halliburton in Berührung mit dem Blutplasma Fibrin bilden würden, was an die schon von Foà und Pellacani einige Jahre vorher durch in den Kreislauf eingeführte Organextrakte erzielten Resultate erinnert) gegen die roten Blutkörperchen gerichtet, die dadurch zerstört werden. Daraus entsteht die Abnahme des Stoffwechsels, die Anämie und das Herunterkommen des Organismus.

Alle übrigen Organe zeigten keine wahrnehmbare Veränderung, und daher schreiben wir ihnen normale Zustände¹⁾ zu.

Aus den Merkmalen der beschriebenen Veränderungen ist die Eigenschaft der injizierten Säfte leicht zu schließen — welchem von ihren Bestandteilen kommt aber die größte Bedeutung betreffs dieser Wirkung zu?

Sicher nicht der als Lösungsmittel angewendeten Flüssigkeit (dem künstlichen Serum), da die absolute Unschädlichkeit derselben wohl nachgewiesen ist; nicht dem Bindegewebe der Organe, welches möglichst ausgeschlossen war; nicht dem nur in geringer Menge vorhandenen Blutgewebe; es sind folglich die eigentlichen Zellenelemente des Parenchyms oder des Gewebes, oder besser die Produkte ihrer Zerlegung, was man als wirklich stark wirksam betrachten muß. Die physiologische Chemie lehrt in der Tat, daß die Elementareinheiten oder die die Zellen zusammensetzende Biogenmoleküle durch chemische Affinitäten und durch physikalisch-molekuläre Kräfte wohl untereinander gebunden sind, daß aber diese Verbindung oder besser dieses Gleichgewicht so sehr unbeständig ist, daß es durch die leichteste Störung aufhört. Es ist die Dissociation der chemischen Moleküle, welche dann auftritt. Unter diesen Molekülen, die von organischen (stickstoffhaltigen [Proteinkörper] und stickstofffreien [Fette, Kohlehydrate]) und anorganischen (Salze, Gase, Wasser) Verbindungen dargestellt sind, sind diesbezüglich die wichtigsten die Proteinkörper. Einige von denselben — Eiweißkörper — stammen aus dem Protoplasma und werden von den genuinen Albuminen, Globulinen, Vitellinen dargestellt; andere — die Proteide — stammen hauptsächlich aus dem Kerne (Miescher) und werden von den Nukleohistonen und Nukleoproteiden (Hammarsten, A. Schmidt, Lilienfeld) dargestellt. Es ist daher durchaus richtiger, die Wirksamkeit der angewendeten Organsäfte den aufgezählten Proteinsubstanzen, die sehr leicht löslich in physiologischen Seris sind, den einfacheren Verbindungen ihrer Reduktion und auch den eventuellen besonderen Produkten der verschiedenen Zelltätigkeiten zuzuschreiben²⁾.

Organen, Oliari diejenigen von Leber, Milz, Nieren, Pankreas, Schilddrüse, Micheli und Donati diejenigen von Thymus und Pankreas, Guerrini die aus dem Blute gewonnenen Nukleoproteide. Außerdem fand sowohl Prof. Foà bei Injektionen von Nebennierenextrakt, wie Dr. Cafiero bei Injektionen anderer Extrakte, wie wir, große Mengen blutpigmenthaltiger und blutkörperchenhaltiger Zellen in den Lymphdrüsen und in der Milz, die eben Ausdruck von intensiver Hämolyse sind.

1) Größerer Genauigkeit halber erwähnen wir, daß manchmal in den Nebennieren schwache, punktförmige Hämorrhagien, und im Gehirn der mit Nebennieren behandelten Hunde Zeichen von Oedem beobachtet wurden.

2) Wir haben es vorgezogen, so kurz und im allgemeinen die Beschaffenheit der

Diese Substanzen sind toxisch, dies wird deutlich von den Ergebnissen unserer Untersuchungen bewiesen, wie wir schon oben gesagt haben.

In lebende Organismen, die ohne jede Erkrankung und weit von jeder anderen äußeren schädlichen Ursache entfernt waren, in mäßigen, aber wiederholten Dosen, durch Maßregeln, die jede andere Mitwirkung auszuschließen vermochten, eingeführt, riefen dieselben eine Reihe von so beständigen und erheblichen Läsionen hervor, daß ein pathologisch-anatomisches Bild der charakteristischsten unter denjenigen entsteht, die bei den toxischen Prozessen auftreten.

Wie bei den letzteren, ist es das Lymphsystem (Lymphdrüsen, Malpighische Knötchen der Milz), welches reagiert, indem es zuerst dem Eintritt des Giftes zu widerstehen sucht und dann neue Zellen wuchern läßt, die entweder direkt (Phagocytose, Metschnikoff) oder indirekt (Alexinbildung, Buchner) der Verteidigung des Organismus nützlich sind.

Es ist das Blutgefäßsystem, welches dadurch besonders in seinen kleinsten Gängen leidet, die nicht mehr fähig sind, das Blut (Hämorrhagien) oder einige Bestandteile desselben (herdweise leukocytaire entzündliche Infiltration, seröse Exsudation) zu behalten. Es ist auch das Blut, welches einen großen Teil seiner, den Lebenserscheinungen erforderlichen Körperchen zerstört verliert.

Wie bei denselben toxischen Prozessen¹⁾, ist es die Schilddrüse (Roger und Garnier, Torri, Crispino), welche ihr Sekret vermehrt, das, von den Lymphgefäßen resorbiert, in den Blutkreislauf übergeht und auf die Gifte wirkt, indem es sie neutralisiert oder zerstört, um die Ausscheidung derselben zu erleichtern und vielleicht

ausgewählten Organe zu erwähnen, anstatt sie einzeln zu besprechen, weil wir es dem Maße und dem Charakter unserer Arbeit genügend halten, da es keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Elementen untereinander gibt, da die diesbezüglichen Kenntnisse lange nicht sicher sind, und schließlich weil jedermann sie in den speziellen Lehrbüchern immer finden würde.

Für diejenigen, welche das nicht tun mögen und einige ausführlichere Kenntnisse wünschen, fügen wir folgendes hinzu:

- 1) daß sich im Pankreas, und zwar in seinen Ausführungsgängen, das bezügliche Sekret vorfindet, das außer Wasser, Salzen, organischen Substanzen drei von der spezifischen Lebenstätigkeit sezernierte Fermente, Trypsin, Amylopsin, Steapsin, enthält;
- 2) daß in den Hoden das Produkt der spezifischen Drüsentätigkeit von dem Spermin dargestellt wird (Poehl, Rotschinine, Schichoreff, Victoroff);
- 3) daß die Ovarien vorwiegend ein Albuminoid, das Kollagen, und ein Glykoprotein, das Mucin, enthalten;
- 4) daß die Nebennieren große Mengen von Palmitin, Lecithin und von gelbpigmentierten Fetten und auch ein spezifisch wirksames Prinzip, über dessen Zusammensetzung die Verf. nicht einig sind: Pyrokatechin (Krukenberg), Sphigmogenin (Fraenkel), Dyoxypyridin (Gerhard), Epinephrin (Abel), Adrenalin (Takamine), enthalten. Nach Foà wären die wirksamen Prinzipie nur Nukleoproteine;
- 5) daß im Sekretionsprodukte der Schilddrüse (Kolloidsubstanz) das wirksame Prinzip derselben Drüse enthalten ist, welches nach den neueren Untersuchungen von Bunge ein labiler Eiweißkörper der Reihe der Enzyme wäre;
- 6) daß sich in der Thymus merklige Mengen von Leucin, Inosit, Protagon, Bernsteinsäure und Thymusmucinsäure (Kossel und Neumann) vorfinden;
- 7) daß im Nervengewebe hauptsächlich Lecithin (stickstoff- und phosphorhaltige Substanz), Cerebrin (stickstoffhaltige, phosphorfremde Substanz), Protagon (Verbindung der beiden?) (Liebreich), Colesterin (monoatomischer Alkohol unbekannter Zusammensetzung) enthalten sind.

1) Neuere Versuche (siehe Lustig, Patol. gen. Vol. I. p. 232) haben nachgewiesen, daß es genügt, eine gewisse Menge Eiweißkörper ins Blut eines Tieres einzuführen, um die Hyperfunktion der Schilddrüse hervorzurufen.

auch (Luciani) die Nierenepithelien zu einer energischeren Tätigkeit anregt.

Wie bei denselben, sind es schließlich die zwei in dem tierischen Organismus so wichtigen Drüsen, welche hauptsächlich betroffen werden: die Leber, welche dafür sorgt, die in den Kreislauf gelangten toxischen Substanzen umzuwandeln und sie weniger schädlich zu machen; — die Niere, welche zu ihrer Ausscheidung bestimmt ist. Und sie sind von schwerer Degeneration in ihren funktionierenden Zellen heimgesucht, die der Giftwirksamkeit nicht zu widerstehen vermögen.

Wohl mit Recht können wir es daher wiederholen, daß die Art der erzielten Läsionen so charakteristisch ist, daß sie leicht einen klaren Begriff über die Natur der Substanzen bietet, nach deren Einführung sie entstehen, wenn diesbezüglich auch nichts anderes bekannt wäre.

Wir besitzen aber — außer unseren und anderen, anfangs erwähnten ähnlichen Untersuchungen — sehr zahlreiche experimentelle Untersuchungen und sehr zahlreiche Kenntnisse auf dem breiten Gebiete der Pathologie, welche die Giftigkeit der Proteinsubstanzen und daher der Organextrakte sicher bestätigen.

Es ist das Verdienst von Pellacani, durch seine Untersuchungen über die wässerigen Verdünnungen von Nebennieren, Muskeln, Leber, Niere, Gehirn, Milz, mit welchen er mehr oder weniger rasch, je nach der Dosis, immer aber unter Vergiftungserscheinungen, den Tod seiner Tiere herbeiführte, die Toxizität der Organextrakte zuerst (1879) festgestellt zu haben.

Später, nachdem Pellacani mit Foà zusammen diese ersten Versuche mit ähnlichen Ergebnissen wiederholte, ist es Bouchard gewesen, welcher sie in seinen *Leçons sur le autitoxications* bestätigte, indem er die Giftigkeit der Extrakte von Muskeln und Leber nachwies; Roger es war, der mit Verbesserung der Versuchsmethode dieselbe noch sicherer machte, indem er durch Extrakte von Muskeln, Leber, Nieren, Gehirn, Schilddrüse den Tod hervorrief, welchem Erschöpfung, Diarrhöe, Myosis, Dyspnoë und Krämpfe vorangingen. Auf diesen folgen Rouques, der die Gegenwart thermogener Substanzen in den Extrakten von fast allen Organen und Geweben konstatierte¹⁾, Gluzinsky, Oliver und Schäfer, Badano, Langlois und Dubois, Corona und Moroni, Hultgren und Andersson, Blum, Herter und Richards, die die Kenntnis der toxischen Wirkung des Nebennierenextraktes auf das zentrale und periphere Nervensystem, auf die Herz-, Atmungs- und Nierenfunktionen, auf die Blutgefäßinnervation vervollständigten und ausführlich bestimmten; Svehla, Abelans und Billard, die die Toxizität des Thymussaftes, Feré und Bestion diejenige des Ovariensaftes nachwiesen; Mairet und Vires, die die Untersuchungen über den Leberextrakt wiederholten, und Giaimis über den Nervengewebeextrakt, mit ähnlichen Erfolgen, welche wir oben erwähnt haben²⁾. Somit gelangt man zu Galeotti, welcher mit aus Bakterien und Geweben gewonnenen Nukleoproteiden, die er in Berührung mit Zellen und Geweben bringt, unter anderem besonders in

1) Neuere Arbeiten von Paulssen und Krehl bestätigen diese Resultate.

2) Ich erwähne diese speziell die Nukleoproteide betreffenden Kenntnisse, da ich schon bemerkt habe, daß für die wirksamsten Stoffe der Extrakte die größtenteils eben von den Nukleoproteiden dargestellten Proteinsubstanzen gehalten werden sollen.

den Epithelien Schwund der spezifischen Funktionen und Degenerationserscheinungen, in den Geweben im allgemeinen entweder Gerinnungen sowohl flüssiger Bestandteile wie intracellulärer Proteinkörper oder vollständigen Zerfall der Zellen erhält.

Dann gelangt man zu Foà, der mit Nukleoproteiden aus Nebennieren, Thymus, Hoden, Knochenmark, die in parenchymatöse Organe eingeführt werden, Entzündungsprozesse und Nekrose hervorruft; zu Guerrini, welcher mit aus Leber und Gehirn intraperitoneal injizierten Nukleoproteiden bei seinen Tieren unter anderem parenchymatöse Läsionen der Niere und der Leber erzielt, die aus Degenerationserscheinungen des Kernes (Pyknose und Karyokinesis) und des Protoplasmas (trübe Schwellung, Koagulationsnekrose, körnige Fettdegeneration) bestehen.

Mit diesen Kenntnissen war es nicht schwierig, viele vorher dunkle pathologische Erscheinungen zu erklären, für andere neue Gründe vorherzusehen, indem man auf diese Weise mit positiven, bei der menschlichen Pathologie gesammelten Ergebnissen bestätigte, was der experimentelle Forscher weiter fand.

Mit Hilfe dieser Kenntnisse konnte man die Genese jener zahlreichen und komplizierten akuten und chronischen Störungen: Kopfweh, Schlaflosigkeit, Erbrechen, Mattigkeit, Aufregung, Ekzeme, Leber- und Nierenentzündungen erklären, die jetzt unter dem Namen Intoxikation aus dem Darms oder aus Nahrungsgiften umfaßt werden. Sie treten sofort auf, wenn die aus dem Zellenzerfalle herrührenden Proteinsubstanzen die normalen physiologischen Umwandlungen und Reinigungen nicht erfahren entweder wegen überreicher Einführung (Albuminismus von Lauder Brunton, Haig, Huchard, Bardet, Rosenbach) oder wegen Veränderungen der chemischen Vorgänge und des Mechanismus bei den Verdauungsprozessen oder wegen anatomischer und funktioneller Veränderungen der Schleimhaut und der Wand des Darmes oder wegen mangelnder Leberfunktion.

Ebenfalls konnten mit diesen Kenntnissen entweder vollkommen oder teils die nicht weniger zahlreichen und komplizierten Erscheinungen erklärt werden, welche auftreten, wenn sich in dem Organismus die Produkte des Zellenzerfalles (autogene Gifte) anhäufen bei Zunahme desselben oder bei verminderter Neutralisierung und Ausscheidung dieser Produkte.

Daher die Albuminurie, die Hypertoxizität des Harnes und des Blutes (Bouchard, Mosso, Roger, Tissier und Bergognié), die nervöse Depression und die Aufregung, die Myocarditis (Peter), die polymorphen Erytheme (Dreyfus-Brisac), das Fieber, welche das klinische Bild der auf lange, schwere Arbeiten folgenden Surmenage zusammensetzen; und so auch die verminderte Widerstandsfähigkeit gegen Infektionskrankheiten, die leichte Möglichkeit der Entwicklung einiger Erkrankungen der Gefäße, der Nieren, der Lungen, und die eben von der Surmenage abhängigen akuten Zwischenfälle während chronischer Krankheiten.

Und daher die sogenannten Wachstumsfieber, die nicht selten an schwachen Kindern mit zu rascher Entwicklung zu beobachten sind; die Psychosen, die Parästhesieen, die parenchymatösen Entartungen der Leber, der Niere, des Herzens bei den sowohl akuten (Typhus) wie chronischen (Tuberkulose) Krankheiten mit schwerem Eingehen des Or-

ganismus: die Neuropathien und die Fieber der Nierenentzündungen, deren Höhepunkt von dem urämischen Anfalle dargestellt wird; die Neuropathien und die Fieber der Schwangerschaft, welche ihren imponentesten und gefährlichen Ausdruck in dem eklampthischen Anfalle finden.

Es ist Folge dieser Grunderrungenschaft der Medizin, daß Buchner und Gamaleia¹⁾ den Proteïnsubstanzen, den Proteïnen (Buchner), den Nukleïnen (Gamaleia), den Nukleoproteïden (Woobridge, Hammarsten, Halliburton), die aus dem Zerfalle des Bakterienleibes herrühren, die toxische Wirkung zuschreiben, welche andere (Behring, Koch, Ehrlich) dagegen auf Sekretionen von speziellen, von dem Mikroorganismus ausgeschiedene Produkte zurückführen.

Dadurch kann ferner Carbone die Leukocyten und der verschiedene Detritus der Zellen sehr wirksam bei den Degenerationsvorgängen des Herzens, der Leber, der Nieren, bei den nervösen, während Lungenentzündungen fast nie fehlenden Störungen erkennen.

Ferner können dadurch Erklärungshypothesen über die fieberhaften Temperaturen aufgestellt werden, die auf schwere Traumen oder ausgedehnte Verbrennungen folgen (Fieber durch Resorption von Zellendetritus).

Schließlich ist es durch diese Ergebnisse möglich geworden, die Wärmeanstiege, die psychischen, sensitiven Störungen, die Störungen des Herzens, der Atmung, die Abnahme der Ernährung zu erklären, welche an einer großen Zahl von Kranken folgende Forscher beobachteten:

Bayroff, Feré, Marchetti nach Behandlung mit Hodenextrakt; Tambroni, Burghart, Fedeli, Spielmann und Etienne für die Ovarientherapie;

Ewald, James, Noorden, Howitz, Stoebel, Béclère, Ballet und Enriquez, Betmann, Charrin und Roger, Wendelstadt u. a. für die Schilddrüsentherapie;

Brunet für die Lungentherapie;

Layral für die Nierentherapie;

Hildebrandt für die Lymphtherapie;

Spitzer, Burghart, Pitres u. a. für die Therapie mit Nebennierensaft.

Obwohl im allgemeinen die zum Nachweis der Giftigkeit der Organextrakte angestellten Untersuchungen überzeugend und die ihnen von den in dem Gebiete der menschlichen Pathologie gesammelten Beobachtungen gebrachte Hilfe kräftig wäre — blieben jedoch einige Fragen ungelöst und mußten einige Zweifel beseitigt werden.

Besitzt das von den meisten Forschern gewählte destillierte Wasser vielleicht nicht eine ausgesprochene cytolytische Wirkung? Ist es nicht fähig, jene Substanzen (Nukleoproteïde) zu lösen, die vielleicht die wirksamsten unter den Proteïnkörpern sind?

Sind die Mischungen mit Alkohol, Glycerin, Chloroform vielleicht noch schädlicher? Störten die direkte Einführung der Lösungen in das zirkulierende Blut (der intravenöse Weg war fast immer vorgezogen),

1) A. Carega teilt neuerdings mit, aus den Bouillonkulturen des *Bacterium coli* ein sehr toxisches Nukleïn isoliert zu haben; und Rist, den Körper des *Diphtheriebacillus* gleichfalls sehr giftig gefunden zu haben.

die Schnelligkeit, mit welcher es geschah, die allzu starke Dichtigkeit der Extrakte, die große Menge der wirksamen Substanz, den Mechanismus des Vorganges, machten sie nicht die Resultate unsicher?

Wie war es einmal möglich, diese sehr akuten Vergiftungen bezüglich ihrer Herkunft gleich jenen langsam, graduell fortschreitenden und komplizierten Vergiftungen aufzufassen, die sich im menschlichen Organismus vollziehen?

Wie konnte man mit Sicherheit die verschiedenen Degenerations- und Entzündungsvorgänge der Organe ausschließlich von den Proteinstoffen ableiten, wenn die direkten anatomischen Beobachtungen nichts anderes nachweisen konnten, als mechanische Kongestionen und plasmatische Gerinnungen?

Meine vorliegenden Untersuchungen — zusammen mit einigen neueren von anderen — die mit zweckmäßigen Methoden, um jeden Zweifel auszuschließen, geführt wurden — bringen, glaube ich, durch ihre Ergebnisse die dunkel gebliebenen Fragen zu Tage.

Schlüsse.

I. Die Tiere, die eine lange Zeitperiode (2, 3 Monate) hindurch mit Organsäften behandelt werden, gehen ein, obwohl sie ernährt und nach hygienischen Maßregeln gehalten werden.

II. Die Lymphdrüsen, die nahe der Gegend (Rücken) gelegen sind, an welcher die Injektionen ausgeführt werden, zeigen deutliche Entzündungsläsionen.

III. Die Schilddrüse tritt immer vergrößert und mit den Follikeln auf, welche von Sekret voll, erweitert und von häufig wuchernden Epithelien bedeckt sind, so daß dieselbe mit Sicherheit als hyperfunktionierend aufzufassen ist.

IV. Die Milz hat die Malpighischen Follikel hypertrophisch und hyperplastisch, zahlreiche Plasmazellen, körperchenhaltige und pigmenthaltige Zellen, manchmal auch reichliche Megakaryocyten, Bluträume und Gefäße häufig blutüberfüllt.

V. Die Leber hat ihre Parenchymzellen teilweise mit fehlendem oder atrophischem Kerne, mit gelockertem oder zerfallenem, häufiger durch Kolliquationsnekrose vollständig vakuolisiertem Protoplasma; häufig sind die interstitiellen Räume breit und von roten Blutkörperchen und deren Detritus ausgefüllt, blutüberfüllte Gefäße und um die Gefäße herum angeordnete oder zerstreute Herde von lymphocytärer Infiltration.

VI. Die Niere zeigt die Kanälchenepithelien (gewundene Kanälchen und Henlesche Schleifen), teilweise mit verschwundenem oder atrophischem Kerne, mit trübem und häufiger sich in körniger Fettdegeneration befindendem Protoplasma, seröses Exsudat in den Kanälchen und in der Kapsel, Herde lymphocytärer Infiltration, blutüberfüllte Gefäße und Glomeruli, interstitielle Hämorrhagien.

VII. Das Blut wird in seinen roten Blutkörperchen betroffen, die in großer Menge zerstört sind.

VIII. Die Schwere und die Ausdehnung der Läsionen entspricht (im allgemeinen)¹⁾ der Behandlungsdauer und mithin der eingeführten Menge des Extraktes oder der wirksamen Substanz.

1) Die wenigen Ausnahmen werden mit der logischen Annahme erklärt, daß bei den einzelnen Organen oder dem gesamten Organismus besondere Widerstandbedingungen vorhanden sind.

IX. Es gibt kein Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Qualität¹⁾ des Extraktes und der Natur der Läsionen, wenn man von dem Nebennierenextrakt absieht, welcher durch die speziellen und bekannten Kreislaufveränderungen der Gefäße und mithin durch die Folgen derselben (Schläfrigkeit, Müdigkeit wegen Gehirnanämie, Frostschauder wegen Hautanämie, Gehirn- und subkutaner Oedem wegen Venenstauung, vermehrte Hämolyse) charakterisiert wird.

X. Es gibt irgend ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Qualität des Extraktes und der Schwere der Läsionen: jener der Thymusdrüse scheint der sanfteste, jener der Nebennieren der kräftigste zu sein.

XI. An den homologen, homogenen und funktionell denjenigen verbundenen Organen, von denen die Säfte injiziert wurden, trat keine wahrnehmbare Störung oder Veränderung zu Tage.

An die hier kurz zusammengefaßten Ergebnisse kann man auch einige praktische Betrachtungen anschließen.

Es liegt uns der Gedanke fern, unser Mißtrauen oder Mißbilligung gegen eine therapeutische Methode zu äußern, welche von vielen geschätzt wird und die sich vielleicht bei verschiedenen Fällen als nützlich erwies, weil auch uns die nötige Autorität und Kompetenz fehlt und weil die Frage sehr unsicher, schwierig und kompliziert ist.

Trotz alledem, wenn wir hören, daß vier oder fünf Injektionen von Hodensaft sehr alten Leuten die Jugendfrische wiedergegeben haben, daß sich die Injektionen von diesem und anderen verschiedenen Organ-säften bei der Tuberkulose, dem Typhus, der Cholera, dem Rotz, dem Milzbrand, dem Krebs, den Gehirnblutungen, den Lähmungen etc. wunderbar wirksam erwiesen haben, so können wir nicht den Zweifel unterdrücken, da wir es erwägen, daß, wenn die Hoffnung wohl begründet ist, ein der organischen Vitalität und Funktionalität nützlich Sekretionsprodukt zeitweise zu ersetzen, indem man dasselbe mittels künstlicher Methoden gewinnt und einführt, wenn es ferner logisch ist, bei anderen Fällen besondere physiologische Eigenschaften einiger chemischer Substanzen tierischer Herkunft zu benutzen, daß dagegen die Hoffnung wenigstens gewagt ist, veränderte und mangelnde Drüsengewebe oder Drüsenorgane mit Extrakten gesunder Gewebe und Drüsen zu ersetzen, schwere, schon aufgetretene Organläsionen zu beeinflussen; ebenso ist es wenigstens unverständlich, auf gebildete widerstandsfähigste Gifte und auf die Folgen derselben wirken zu können.

Wenn man dann außerdem zwecks einer raschen Therapie den subkutanen oder intramuskulären Weg rät und auswählt und diese Therapie mehrere Monate hindurch fortgesetzt und sogar zu Dosen von 10—20 ccm täglich mit kondensierten Extrakten gesteigert wird, so kann man nicht den Verdacht vermeiden, daß dadurch nicht leichte Schäden verursacht werden können, nachdem wir bei unseren 25 (und bei denjenigen der anderen) in ähnlicher Weise und mit ähnlichen Maßregeln behandelten Tieren schwere trophische, entzündliche, degenerative Läsionen von sicher toxischer Herkunft beständig wahrgenommen haben.

1) Diese Tatsache beweist klar, daß die Läsionen von den beständig in den Zellen aller Gewebe enthaltenen Proteinsubstanzen herbeigeführt werden. Was übrigens schon von anderen ausgesprochen war; unter diesen erwähne ich Herrn Prof. Foà, welcher verschiedene Nukleoproteide angewendet und immer identische Resultate bekommen hat, wenn er nur die Dosis variierte, da der Unterschied bloß quantitativ ist.

Zum Schlusse möchte ich dem hochverehrten Herrn Prof. Dr. Alessandro Bruschetti meine lebhaft und dauernde Dankbarkeit versichern, der mir bei den mühevollen Versuchen die trefflichsten Ratschläge und die beste Unterstützung angedeihen ließ.

Turin, Oktober 1903.

Bibliographie.

- Abel, Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XXVIII.
 Abelous und Billard, Münch. med. Wochenschr. 1896.
 Albarran et Bernard, Arch. de méd. expér. etc. 1903. No. 1.
 Badano, Kgl. med. Akad. von Genua. 1897. 7. Febr.
 Bayroff, Wratsch. 1891.
 Béclère, Soc. méd. de hóp. de Paris. 1895. Jan.
 Betmann, Berl. klin. Wochschr. 1897.
 Ballet et Enriquez, Semaine méd. 1894. — Méd. mod. 1895.
 Blum, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXI. 1901.
 Bouchard, Leçons sur les autointoxications. (Pathol. générale. 1893.) — Le doctrine de la fièvre. (Semaine méd. 1893.)
 Brunet, Bull. méd. 1896. — Gaz. hebdom. de méd. et chir. 1897.
 Buchner, Münch. med. Wochenschr. — Centralbl. f. Bakt. etc.
 Burghart, Dtsch. med. Wochenschr. 1899.
 Carega, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903. No. 4.
 Cafiero, Riforma med. 1903.
 Corona e Moroni, Riforma med. 1898.
 Crispino, Die Schilddrüse bei den Infektionen und experimentellen Intoxikationen. (Ztg. d. neapolit. Ges. d. Aerzte u. Naturf. Bd. XII. No. 3.)
 Charrin et Roger, Semaine méd. 1895.
 Ewald, XIII. Kongr. f. innere Med. Wiesbaden 1896.
 Ferrannini, Handb. d. Organotherapie etc. Palermo 1902. — Ueber ein kardiotoxisches Serum. (Riforma med. 1903. No. 10.)
 Feré et Bestion, XII. Congr. français de méd. Montpellier 1898. April.
 Feré, Soc. de biol. de Paris. 1893.
 Fedeli, Riforma med. 1896.
 Foà, Anatom. u. experim. Beitrag zur pathol. Physiologie der Nebennieren. (Kgl. Akad. d. Wissensch. Turin 1900.) — Ueber die in den frischen Nebennierenextrakten enthaltene Substanz. (Ibid. 1901.) — Ueber die Zellenbildung bei der Entzündung und anderen analogen Prozessen mit besonderer Berücksichtigung der Bildung der Plasmazellen. (Ibid. 1902.)
 Gamaleia, Les poisons bactériens. Paris 1892.
 Galeotti, Wirkung der Nukleoproteide auf die Zellen und die Gewebe. (Sperimentale. Vol. LIV. Fasc. 5.)
 Giamis, X. Kongr. d. ital. med. Ges. Rom 1899.
 Gluzinsky, Wien. med. Wochenschr. 1895.
 Guerrini, Wirkung der Nukleoproteide auf homogenes und heterogenes Blut. (Gazz. d. osped. 1903.) — Zur Wirkung der Nukleoproteide auf die Zellen des Leberparenchyms. (Riforma med. No. 26.)
 Herter and Richards, Med. News. 1902.
 Hultgren und Andersson, Skand. Arch. f. Phys. 1899.
 Klein, Ueber den Einfluß von Organextrakten auf rote Blutkörperchen. (K. k. Ges. d. Aerzte in Wien. Wien. klin. Wochenschr. Bd. LII. 1901.)
 Korschun und Morgenrot, Ueber die hämolytischen Eigenschaften von Organextrakten. (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXXVII. 1902.)
 Krehl und Matthes, Arch. f. exp. Path. Bd. XXXVI.
 Marchetti, La Pediatria. 1893.
 Marfan, La fatigue et le surmenage.
 Mairet et Vires, Arch. de phys. norm. et path. 1897.
 Micheli e Donati, Riforma med. No. 38.
 Levaditi, Sur les hémolysines cellulaires. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. No. 3.)
 Linossier et Lemoine, Soc. de biol. 1903. Apr. p. 25.
 Layral, Journ. des praticiens. 1899.
 Langlois et Dubois, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1893, 1898. — Presse méd. 1897.
 Luciani, Physiologie des Menschen. 1901.
 Lustig, Allgemeine Pathologie. 1901.

- Oliari, Zum hämolytischen Wert der Organextrakte. Medizinische Schriften für das 25. Jubiläumsjahr von Prof. Riva. Parma (R. Pellegrini) 1902.
- Oliver and Schaefer, Journ. of Physiol. 1895.
- Paulssen, Ueber die Ursachen der fieberhaften Temperatursteigerungen. [Inaug.-Diss.] Jena 1895.
- Pellacani, Ueber die toxischen Wirkungen der wässrigen Verdünnungen von den frischen Organen. (Arch. scienze med. Vol. III. 1879. No. 24.)
- Pellacani und Foà, Ueber das Fibrinferment und über die von einigen frischen Organen hervorgerufenen toxischen Wirkungen. Turin (V. Bona) 1883.
- Poehl, Lyon méd. 1894. — France méd. 1897.
- Roger, Les intoxications.
- Rist, Soc. de biol. 1903. 11. Juli.
- Rouques, Substances thermogènes extraites des tissus animaux sains et fièvres par autointoxications. [Thèse de Paris.] 1893.
- Shibayama, Einige Experimente über Hämolyse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. No. 20.)
- Spielmann et Etienne, III. Congr. franç. de méd. Nancy 1896. Aug.
- Svehla, Wien. med. Blätter. 1896.
- Tambroni, Akad. d. med. Wissensch. Ferrara 1896.
- Tarasewitch, Sur le cytases. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. No. 2.)
- Victoroff, Berl. klin. Wochenschr. 1891. — XII. internat. med. Congr. Moskau 1897.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Lymphdrüse mit (a) hypertrophischem und hyperplastischem Follikel, mit (b) hyperplastischen Bindegewebstrabekeln, mit (c) erweiterten und von (d) blutpigmenthaltigen Zellen ausgefüllten Lymphräumen, (e e') polymorphe Leukocyten, (f) Lymphocyten, (g) abgestoßene Endothelien, (h) Plasmazellen.

Fig. 2. Schilddrüse mit (a) ausgedehnten und von reichlicher Kolloidsubstanz gefüllten Follikeln, mit (b) gewucherten Epithelien, mit (c) neugebildeten Follikeln.

Fig. 3. Milz mit (a) hypertrophischem und hyperplastischem Follikel, mit (b) an roten Blutkörperchen, Plasmazellen und (c) Megakaryocyten reicher Pulpa.

Fig. 4. Leber mit (a) schwer vakuolisierten Parenchymzellen, mit (b b') Herden lymphocytärer Infiltration, mit (c) roten Blutkörperchen und Detritus derselben.

Fig. 5. Niere mit (a) Kanälchenepithelien, die teils kernlos zerfallenes Protoplasma aufweisen, mit (b b') Herden von kleinzelliger Infiltration, mit (c) roten Blutkörperchen und deren Detritus in den Räumen zwischen den Kanälchen, mit (d d') blutüberfüllten Glomerulis und mit (e) Exsudat zwischen der Bowmanschen Kapsel und der Gefäßschleife.

Fig. 6. Niere mit (a) großen, schwarzen Fettkörnchen (Osmiumsäure-reaktion) in den Kanälchen.

Nachdruck verboten.

Toxines et antitoxines.

De la ricine et de l'antiricine.

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'État Danois.]

Par Th. Madsen et L. Walbum, Copenhague.

Avec 7 diagrammes.

L'étude de la ricine a toujours joué un grand rôle dans les recherches sur l'immunité. C'était une des substances, par laquelle Ehrlich démontra pour la première fois qu'on était à même d'exprimer par les nombres la force de l'immunité. Avec la ricine et l'antiricine, Ehrlich réussit à faire de nouveaux progrès importants, en introduisant dans les études sur l'immunité les expériences en éprouvettes, qui ont joué un rôle si considérable dans les recherches des dernières années.

Ces derniers ans, ce sont surtout les travaux intéressants de

Jacoby¹⁾ et de Danysz²⁾ qui nous ont démontré que les relations entre la ricine et l'antiricine pouvaient être utilisées pour élucider le problème compliqué de la combinaison des toxines et des antitoxines. Il était donc naturel de comprendre la ricine dans les recherches de cette nature que poursuit pour le moment notre Institut.

Le problème posé comprend d'une part la faculté d'agglutination, et de l'autre ses effets sur l'organisme.

Pour les recherches, on a utilisé la préparation de Merck.

L'antiricine provient d'une chèvre; au début de l'immunisation. On lui donna per os au cours d'un mois du tourteau pressé de ricine. On n'observa ainsi aucune augmentation notable de la faculté agglutinative; celle-ci ne commença à monter que quand on lui eut donné sous-cutanément des quantités croissantes de ricine. Le sérum utilisé dans les observations suivantes, fut pris le 16/8 1903, 9 jours après l'injection de 3 gr. de ricine. On chauffa, avant l'emploi, le sérum pendant 30^m jusqu'à 55°, afin d'éliminer ses facultés hémolytiques.

La figure 1 représente les changements dans les qualités anti-agglutinatives du sérum, consécutives à l'injection sous-cutanée de 1 gr. de ricine. On en voit donc qu'ils suivent les mêmes lois que les autres anticorps. Ici, il est d'intérêt de se rappeler que c'était justement par l'immunisation des souris contre la ricine qu'Ehrlich³⁾ démontra pour la première fois des oscillations dans la formation des anticorps, l'immunité paraissant d'une façon critique au bout de 6 jours.

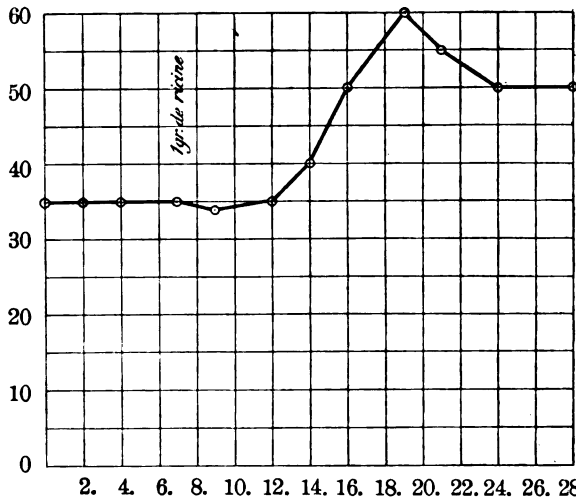


Fig. 1.

I. L'agglutination.

Il est assez difficile de trouver une bonne méthode pour mesurer l'agglutination. Nous avons obtenu les meilleurs résultats par le procédé suivant qui s'appuie sur un principe ressemblant à celui utilisé par Jørgensen et Madsen pour la mesuration de l'agglutinine typhoïde et cholérique⁴⁾. On employa des hématies de lapin qui, après défibrination et lavage avec 0,9% NaCl, furent mélangées avec 0,9% NaCl de manière à obtenir une suspension de 1%. Dans une série

1) Ueber Ricinimmunität. (Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I. 1901. Bd. II. 1902.)

2) Mélanges des toxines avec les antitoxines. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.)

3) Ueber Ricin. (Deutsche med. Wochenschr. 1891.)

4) The fate of typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation. (Festskrift ved Indvielsen af Statens Serum-Institut. 1902.)

d'éprouvettes on introduisit 5 ccm avec une quantité de solution NaCl telle que le volume total, après l'addition de ricine, fût toujours porté au volume constant de 7 ccm. Puis, on ajouta en quantité décroissante le liquide, dont le contenu de ricine devait être mesuré. Enfin, on agita les verres avec beaucoup de soin, et ils furent déposés dans un bain d'Ostwald d'env. 37°. Observe-t-on alors une telle série, au bout d'env. 20—40 min., on trouvera un décroissement graduel de l'agglutination, ce qu'on voit aisément par la limpidité plus ou moins grande du liquide. En choisissant un temps favorable, on verra qu'un verre du milieu de la série pourra facilement être distingué de ses voisins, étant moins diaphane que celui contenant plus de ricine, et plus limpide que celui où il se trouve moins de ricine.

S'il y a plusieurs séries, plongées et sorties en même temps, on pourra distinguer les éprouvettes des différentes séries montrant la même agglutination, et pour lesquelles il faudra donc supposer la même quantité de ricine libre.

Si on attend trop longtemps, les hématies se déposeront au fond et aux parois du verre, ce qui rendra très difficile la comparaison.

Le résultat ainsi obtenu, c'est de pouvoir déterminer les proportions entre les solutions de ricine en question.

Avant les expériences on prépara, avec la solution physiologique, une solution de ricine de 1%, dont on s'est servi pour toutes les recherches ultérieures.

On comprendra peut-être l'arrangement expérimental le plus facilement à l'aide de la description détaillée d'une expérience isolée.

On prépare (28/8 1903) une série de mélanges de 4 ccm d'une solution de ricine de 1% avec respectivement 0, 0,10, 0,12 — jusqu'à 0,4 ccm d'antiricine, et en y ajoutant resp. 3,9—3,88 ccm etc. de sol. NaCl, on porte la concentration de ricine à $1\frac{1}{2}$ %. Le mélange reste pendant 1 h. à l'étuve à 37°. A cette température la réaction entre la ricine et l'antiricine sera finie au bout de 10—15 m, tandis qu'à la température ordinaire des chambres de 15° cela n'arrivera qu'au bout de plusieurs heures.

En ajoutant l'antitoxine, il se produit, comme Jacoby et Danysz l'ont décrit, un précipité volumineux qu'on ne filtrera pas, mais qui sera, avant la répartition dans les verres, émulsionné dans le liquide surnageant.

Pour les 15 séries de sang de lapin de 1%, on pipette les quantités indiquées dans la table 1. Toutes les séries sont alors plongées au bain chaud de 37°; au bout de 20 minutes, les éprouvettes marquées d'une x offriront la même agglutination.

Le résultat est indiqué dans le tableau 2, où, sous n l'on trouvera en ccm, les quantités d'antiricine ajoutée aux 4 ccm de solution de ricine de 1%; sous x obs. les valeurs de la table 1, qu'on suppose de contenir la même quantité de ricine libre; sous T obs. on trouvera la toxicité du mélange calculé par ccm. Les deux dernières colonnes contiennent les valeurs calculées pour x, et T.

On trouvera ces observations introduites dans un système de coordonnées où le long de l'axe de l'abscisse on a tracé n, la quantité d'antiricine ajoutée aux 4 ccm de solution de ricine de 1%, tandis que la toxicité correspondante s'y trouve comme ordonnées (fig. 2). La courbe indique les valeurs calculées; les observations sont marquées par o.

Tableau 1.
4 ccm de solution de ricine de 1% + n ccm d'antiricine.

n =

Dose en ccm	0	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28	0,30	0,32	0,35	0,4
2,0															> x
1,8															> x
1,6															
1,5															
1,3															
1,0															
0,8															
0,6															
0,5															
0,45															
0,4															
0,35															
0,3															
0,25															
0,2															
0,17															
0,15															

Les valeurs observées pourront être calculées par la formule utilisable pour la tétanolyse¹⁾ et pour le poison diphtérique²⁾.

$$\left(\frac{\text{Ricine libre}}{\text{vol.}}\right) \left(\frac{\text{Antiricine libre}}{\text{vol.}}\right) = K \left(\frac{\text{Ricine - Antiricine}}{\text{vol.}}\right)^2$$

Le volume restant toujours le même (7 ccm) on l'a omis dans le calcul.

Apparemment, il est des irrégularités dans les déterminations correspondant aux plus bas valeurs de n, dont nous parlerons plus tard; voilà pourquoi nous les avons omis dans nos calculs et nous nous sommes essentiellement servis des déterminations élevées de n pour le trace de la courbe.

A cause des fautes d'expérience assez grandes, la détermination des constantes des courbes est exposée à être quelque peu arbitraire, et partant les chiffres indiquées plus bas ne sont qu'approximatifs.

Le calcul s'est fait de la même façon que dans les deux mémoires mentionnés plus haut:

$$\frac{1}{T_0} \left\{ np \frac{1}{T} - \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right\} = K \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)^2$$

où T_0 est la valeur de T, si $n = 0$; n, la quantité d'antiricine exprimée en ccm, ajoutée à 4 ccm de ricine 1%; p, le multiple de 4 ccm de ricine 1% équivalent à 1 ccm d'antiricine et K, la constante de dissociation.

En ce cas, p, fut trouvé égal à 7,25; K, la constante de dissociation = 0,0537.

1) Arrhenius and Madsen, Physical chemistry applied to toxins and antitoxins. (Festschrift v. Indvielsen af Statens Serum Institut. Copenh. 1902.)

2) Madsen, La constitution du poison diphtérique. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.)

Tableau 2.
 $p = 7,25. K = 0,0537.$
 28/8 1903.

n	obs.		calc.	
	x	T	x	T
0	0,15	6,67	(0,0507)	(19,72)
0,10	0,15	6,67	0,148	6,76
0,12	0,2	5,0	0,2	5,0
0,14	0,275	3,64	0,275	3,64
0,16	0,35	2,86	0,37	2,7
0,18	0,48	2,08	0,48	2,08
0,20	0,5	2,0	0,6	1,67
0,22	0,65	1,54	0,72	1,39
0,24	0,85	1,18	0,85	1,18
0,26	1,0	1,0	0,98	1,02
0,28	1,2	0,83	1,11	0,9
0,30	1,25	0,8	1,25	0,8
0,32	1,4	0,71	1,38	0,72
0,35	1,85	0,54	1,58	0,63
0,40	> 2,0	< 0,5	1,92	0,52
27/8 1903.				
0	0,21	4,76		
0,11	0,21	4,76		
0,13	0,24	4,17	0,24	4,17
0,15	0,28	3,57	0,32	3,13
0,17	0,48	2,08	0,42	2,38
0,20	0,59	1,69	0,6	1,67
0,25	0,86	1,16	0,91	1,11
0,3	1,28	0,78	1,25	0,8

Tableau 3.
 $p = 2,9. K = 0,026.$
 14/10 1903.

n	obs.		calc.	
	x	T	x	T
0	0,094	10,6	0,0945	10,58
0,1	0,11	9,09	0,133	7,52
0,15	0,11	9,09	0,165	6,1
0,2	0,225	4,44	0,216	4,63
0,25	0,3	3,33	0,3	3,33
0,3	0,45	2,22	0,453	2,21
0,35	0,7	1,43	0,71	1,41
0,4	1,1	0,91	1,08	0,93
0,45	1,4	0,71	1,52	0,66
0,5	2,0	0,5	2,0	0,5

24/10 1903.

n	obs.		obs.		obs.		obs.		obs.	
	x	T	x	T	x	T	x	T	x	T
0	0,15	6,67	0,18	5,5	0,15	6,67	0,15	6,67	0,17	5,88
0,1	0,15	6,67	0,145	6,9	0,15	6,67	0,13	7,69	0,17	5,88
0,15	0,15	6,67	0,18	5,5	0,13	7,69	0,185	5,41	0,185	5,41
0,2	0,14	7,14	0,2	5,0	0,14	7,14	0,2	5,0	0,2	5,0
0,25	0,2	5,0	0,27	3,7	0,2	5,0	0,3	3,33	0,325	3,08
0,3	0,45	2,22	0,41	2,44	0,45	2,22	0,43	2,33	0,5	2,0
0,35	0,65	1,54	0,82	1,22	0,65	1,54	0,6	1,67	0,85	1,18
0,4	1,0	1,0	1,1	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,3	0,77
0,45	1,5	0,67	1,35	0,74	1,5	0,67	1,5	0,67	1,6	0,63
0,5	2,0	0,5	2,78	0,36	2,0	0,5	2,0	0,5	2,0	0,5

Tableau 4.
 $p = 1,42$. $K = 0,0142$.
 25/11 1903.

n	I. obs.		calc.		II. obs.	
	x	T	x	T	x	T
0	0,22	4,54	0,22	4,54	0,28	3,57
0,05					0,28	3,57
0,1	0,25	4,0	0,256	3,9	0,28	3,57
0,15					0,28	3,57
0,2	0,3	3,33	0,307	3,26	0,28	3,57
0,3	0,35	2,86	0,379	2,64	0,35	2,86
0,4	0,5	2,0	0,496	2,02	0,47	2,13
0,5	0,8	1,25	0,705	1,42	0,8	1,25
0,6	1,39	0,72	1,13	0,88	1,45	0,69
0,7	1,85	0,54	2,0	0,5	2,2	0,45
0,8	3,13	0,32	3,5	0,29	2,7	0,37
0,9					3,45	0,29

Tableau 5.
 23/11 1903.

n	obs.		n	obs.	
	x	T		x	T
0	0,17	5,88	0,4	0,47	2,13
0,08	0,25	4,0	0,48	0,7	1,43
0,16	0,29	3,45	0,56	1,1	0,91
0,24	0,34	2,94	0,64	2,2	0,45
0,32	0,37	2,7			

La combinaison de 4 ccm de la ricine de 1% et de cette antiricine fut examinée à trois moments divers: le 28/8 (table 2, fig. 2), le 14/10 (table 3, fig. 3), le 25/11 (table 4, 5; fig. 4, 5), à côté des observations calculées on verra dans les tables d'autres du même temps, assez correspondant aux mentionnées.

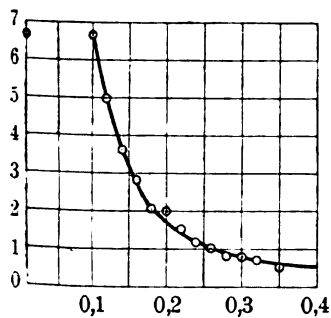


Fig. 2.

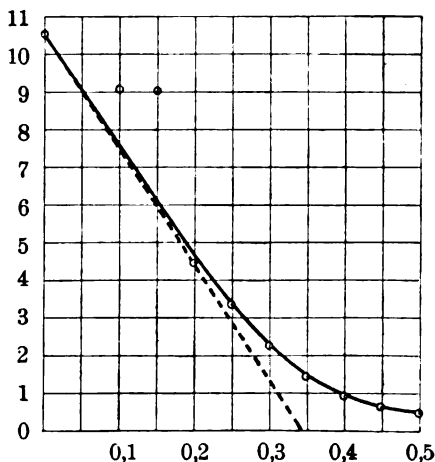


Fig. 3.

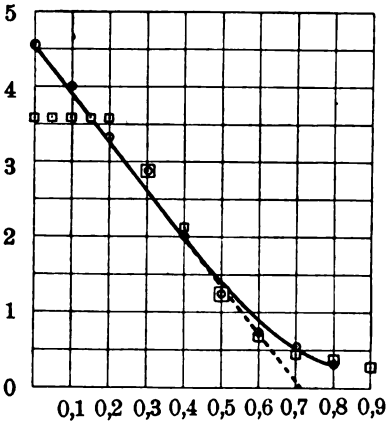


Fig. 4.

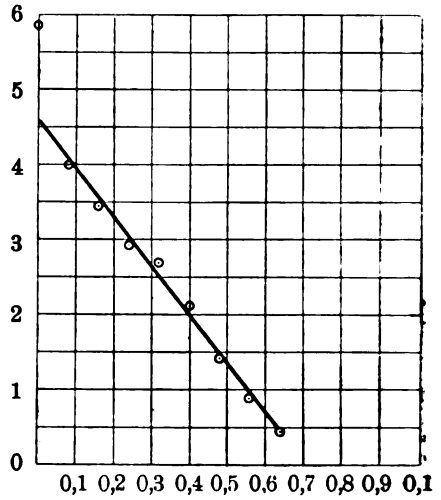


Fig. 5.

On trouva que l'antiricine s'affaiblissait pendant cette période, ce qui s'observe par le décroissement continu du chiffre d'équivalent 7,25 (28/8), 2,9 (14/10), et 1,42 (25/11).

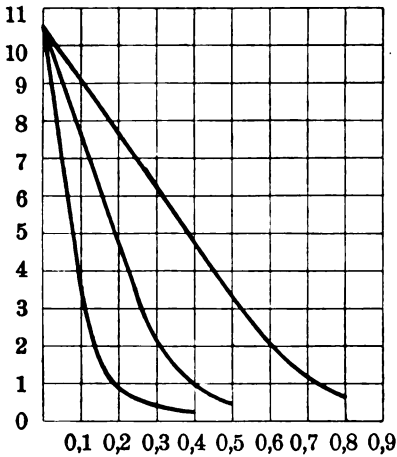


Fig. 6.

On le voit, la constante de dissociation décroît sans cesse en s'approchant toujours à 0; en même temps la courbe de neutralisation s'approche de même aux asymptotes, revêtant ainsi de plus en plus l'aspect d'une ligne droite (voir aussi la table 5, fig. 5). Les changements seront peut-être le mieux illustrés par la fig. 6, qui montre à la même échelle les courbes de neutralisation des trois périodes.

Il se peut que cet abaissement de la constante de dissociation soit plus apparente que réelle, et qu'il ne provienne que de l'accroissement simultané de n à mesure que diminue la quantité d'antiricine. On voit toutefois qu'en réduisant les valeurs de n , on ne saura cependant faire que les courbes se recouvrent complètement, mais nos observations sont trop peu exactes, et leur nombre trop restreint pour qu'on puisse décider si les écarts sont dus à des fautes d'expérience.

En examinant les observations précitées, on verra qu'assez souvent il se présente de grandes irrégularités dans la première partie de la courbe, c'est-à-dire quand on ajoute des petites quantités d'antiricine.

Très souvent 0,1 à 0,2 ccm ne produisent qu'un faible décroissement, quelquefois aucun du tout des effets toxiques; ils s'agrandissent même quelquefois. De semblables observations ont été faites par Ja-

coby quant à la crotine¹⁾, par Hausmann pour l'abrine²⁾, et par nous en ce qui concerne la présure. Toutefois, avec une concentration plus élevée d'antitoxine, la régularité devient plus grande et l'examen des tables montre que les observations de la même période, en tenant compte des fautes d'observations correspondent assez bien entre elles et avec les valeurs calculées.

Cette absence des „anti-effets“ pour de petites quantités de sérum offre une certaine ressemblance avec ce phénomène qu'on a attribué, pour le poison diphtérique, à la présence de „prototoxoïdes“. En pareil cas, on ne saurait attribuer ce phénomène à un tel changement du poison même, le phénomène étant inconstant et ne se trouvant que dans la moitié des cas. Ceci ressort clairement de l'observation du 25/11, où l'obs. I (fig. 4, marqué o) s'exprime sans difficulté par une courbe régulièrement décroissante, tandis que l'obs. II, marqué □, entreprend quelques heures plus tard avec exactement la même dilution du sang et avec les mêmes solutions de ricine et d'anticicine, offrait pour $n = 0; 0,05; 0,1; 0,15$ et $0,2$ tout à fait la même valeur; tandis que le reste des observations pour de plus grands n , correspond à peu près à celles du No. I.

Il ne s'agit ici d'aucun changement dans la force de la ricine: la solution employée était la même pour toutes les expériences précédentes et suivantes, et sa faculté agglutinative restait constante pendant les 4 mois que duraient les expériences. On trouvera, du reste, tout-à-fait les mêmes irrégularités dans toutes les autres expériences (voir table 3, exp. du 14/10, et du 24/10).

Jusqu'ici, on inclinait à admettre que ces sortes d'irrégularités (absence des „anti-effets“), avec concentration peu élevée d'antitoxine, en tant qu'elles ne sauraient d'interpréter comme des fautes d'expériences — étaient dues à un élément spécial du poison, la prototoxine, doué d'une avidité plus grande que le reste de la toxine, et qui en tout ou en partie, perdait facilement sa toxicité en se changeant en „prototoxoïde“.

D'après nos expériences, il est incertain, si cette conception est la correcte. Elles semblent indiquer qu'il n'est pas nécessaire de chercher la cause du phénomène dans la toxine elle-même; il depend peut-être de changements minimes dans le milieu ambiant.

II.

Les effets toxiques.

Les expériences sur les effets toxiques de la ricine ont surtout été faites sur des cobayes à l'aide d'injections souscutanées: on obtient ainsi un réactif très sensible pour les déterminations des quantités de poison au-dessous de la dose minima mortelle. Ces dernières produisent (voir table 6), même en quantité très minime, une forte réaction locale. Quelques jours après l'injection faite à l'aisselle, il se forme un œdème qui s'étend sur la surface abdominale, et qui pour les très petites doses, disparaît en peu de jours. Même une quantité de ricine qui n'est que $\frac{1}{4}$ de la dose mortelle produit une nécrose, avec diminution simultanée du poids, arrivant env. 8 jours après l'injection, dont la guérison demande plusieurs semaines, pendant lesquelles l'animal reprend lentement son poids antérieur. En cas de quantité de ricine plus grande,

1) Ueber Crotinimmunität. (Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. IV. 1903.)

2) Zur Kenntnis des Abrins. (Ibid. Bd. II. 1902.)

la partie nécrotique sera proportionnellement plus étendue; le poids s'abaisse toujours, et la sujet succombe fréquemment en cachexie. La ricine rappelle le poison diphtérique, et par ses effets locaux et par sa grande influence sur l'économie, telle qu'elle ressort de la perte des poids.

La dose minima mortelle se détermine difficilement; nous l'avons évaluée à env. 0,00012 g.

Une série d'expériences à saturation partielle de ricine avec antiricine fut instituée (tableau 7). A une quantité constante de ricine 0,005 g, contenant environ 41 d. m. m., on ajouta de quantités variables d'antiricine, qu'on trouvera indiquées dans la tab. 7 sous la rubrique n. Là où le mélange contenait plus d'une dose minima mortelle il fut établi qu'elle était la fraction minimale contenant une telle dose (2. colonne).

Le résultat se trouve dans le résumé ci-dessous (table 8) où dans la première colonne n marque la quantité d'antitoxine, exprimée en ccm ajoutée aux 0,005 g de ricine. Dans la rubrique suivante n calc. (parce que dans ce cas la calcul de n est plus commode que celui de T) indique un n théorique, dont le calcul sera indiqué plus bas; x indique combien de ccm de ce mélange contiennent une dose mortelle, tandis que T indique la toxicité du mélange, c'est à dire combien de doses mortelles sont contenues dans le mélange de 0,005 g de ricine et de n ccm d'antiricine.

Le résultat est inscrit dans un système de coordonnées où l'on a marqué n le long de l'axe de l'abscisse, et T le long de l'axe des coordonnées (fig. 7). Comme plus haut, la courbe montre les valeurs calculées, ⊙ les valeurs observées.

Les faits observés peuvent s'exprimer par une formule semblable à celle de l'agglutinine de ricine; il y a cependant cette différence que l'exposant de la puissance n'est que de $\frac{3}{2}$, ce qui fait supposer qu'une quantité constante de ricine (peut-être 2 molécules) s'unit à 2 mol. d'anti-

Tableau 6.
Dose minime mortelle. Cobayes 250 g.

Dose en g	Résultat	Oedème sans nécrose			
		"	1	qcm	grande nécrose
0,00001		"	4	"	"
0,000025		"	4	"	"
0,00005		"	6	"	"
0,00006		"	6-10	"	"
0,00008		"	6-10	"	"
0,0001		"	6-10	"	"
0,0001		"	6-10	"	"
0,0001	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,0001	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,0001	† 3	"	6-10	"	"
0,00012		"	6-10	"	"
0,00012		"	6-10	"	"
0,00012		"	6-10	"	"
0,00012	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,00014	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,00014	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,00014	† $1\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,00015	† $3\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,0002	† $2\frac{1}{2}$	"	6-10	"	"
0,0004	† 2	"	6-10	"	"

Tableau 7.

0,005 g de ricine + n ccm d'anti- ricine	Divisé par	Résultat		0,005 g de ricine + n ccm d'anti- ricine	Divisé (multi- pliés) par	Résultat	
n				n			
0,01	: 25	† 2½		0,04	1	—	grande nécrose. † de cachexie
	: 26	—	nécrose		1	—	
	: 27	—	nécrose				
	: 30	—	nécrose	0,05	× 10	† 5½	
					× 5	† 8	
0,0125	: 19	—	nécrose		× 5	—	4. jour, gr. oedème, durant 14 jours, 14. jour petite nécrose
	: 20	† 4					
	: 21	† 2			1	† 11	
	: 22	—	nécrose		1	—	3—6. jour oedème, qui disparaît au bout de 3 semaines sans nécrose
							2—4. jour grand oedème sans nécrose
0,015	: 17	† 2½		0,06	× 10	† 6	
	: 18	—	nécrose		× 5	† 13	
					1	—	pas de nécrose 4 × 4 qcm oedème, disparaissant en 3 semaines sans nécrose
					1	—	
0,02	: 12	† 2½		0,07	1	—	4 × 3 qcm oedème — sans nécrose Au 5—6. jour, 2 × 1 qcm oedème, durant 3 semaines. Pas de nécrose
	: 14	—	nécrose		1	—	
	: 20	—	nécrose		1	—	
0,0225	: 8	† 2		0,08	1	—	
	: 9	† 2					
	: 10	—	nécrose		1	—	
				0,09	1	—	id.
0,025	: 7	† 3		0,1	1	—	1 × qcm oedème
	: 8	† 7½		0,15	1	—	Pas de réaction
0,0275	: 5	† 1½		0,2	1	—	ibid.
	: 6	—	nécrose				
0,03	: 3	† 3½					
	: 4	† 2½					
	: 5	—	nécrose				
	: 5	—	—				
0,0325	: 2	† 3					
	: 3	† 3					
	: 4	—	nécrose				
0,035	: 1	† 3					
	: 2	† 7					
	: 2	—	nécrose				

ricine pour former 3 mol. d'une ou de plusieurs combinaisons. On obtenait la meilleure concordance, si $p = 43$, et $K = 0,00149$.

A cause de la grande incertitude de la détermination de $n = 0$, cette valeur a été extrapolée des autres déterminations.

Tableau 8.

 $p = 43.$ $K = 0,00149.$

n	n calc.	x obs.	T obs.
0	0	0,000123	40,65
0,01	0,00991	0,0002	25
0,0125	0,0127	0,000238	21
0,015	0,0157	0,000294	17
0,02	0,0198	0,000417	12
0,0225	0,0226	0,000556	9
0,025	0,0249	0,000714	7
0,0275	0,0277	0,001	5
0,03	0,0295	0,00125	4
0,0325	0,0318	0,00187	3
0,035	0,0419	0,005	1
	0,0506	0,01	(0,5)
	0,0626	0,02	(0,25)
	0,086	0,05	(0,1)

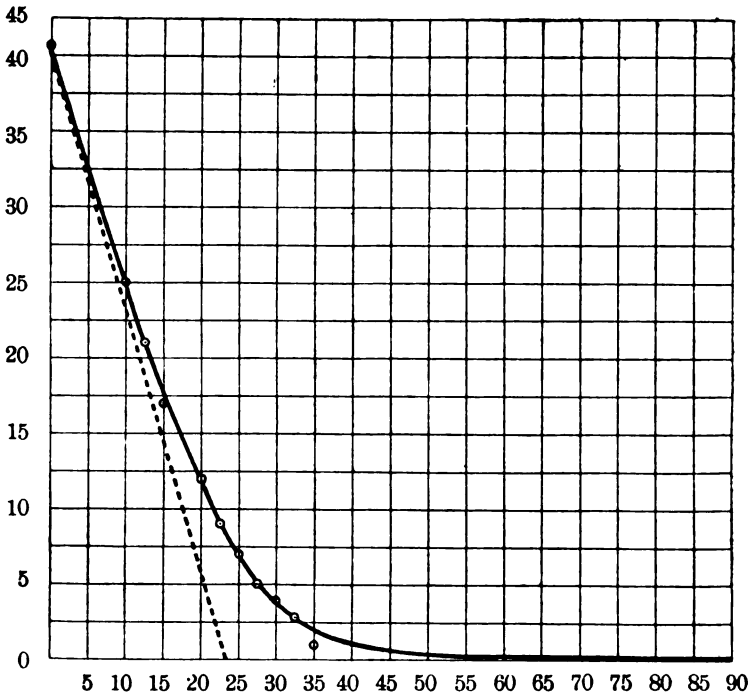


Fig. 7.

L'accord est donc excellent, l'écart des valeurs calculées n'étant nulle part au-dessus de 4,5% (la faute probable n'est que de 1,3%). exception faite de la dernière valeur de $n = 0,035$, où la toxicité observée (1) reste considérablement au-dessous de la toxicité calculée (2).

Si l'on ajoute de nouveau de l'antitoxine, la toxicité diminue lentement, on observera encore à 0,1 ccm d'antiricine, un oedème durant des semaines. Ceci s'accorde avec les observations de Jacoby et de Danysz, qui insistent de même sur la grande différence existant entre le mélange minimum actif (L_0) et le mélange mortel (L_+).

Quant aux mélanges de la ricine avec une concentration élevée d'antiricine, on constate cette particularité, qu'ils provoquent

un oedème, lequel est même très étendu, mais arrive tardivement et disparaît sans nécrose. Tel est le cas, même si on quintuple si on ou décuple la dose. Par contre, des quantités même minimales de ricine pure, $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ de la dose mortelle, sont constamment suivies de nécrose.

De plus, il ressort de nos calculs que la toxicité d'un tel mélange est au-dessous de celle calculée. Comme le montre la table — $n = 0,05$ (toxicité calc. 0,5); $n = 0,06$ (toxicité calc. 0,25) — il faudra se servir d'une dose considérablement plus grande que celle contenant, suivant les calculs, la dose minima mortelle, pour produire la mort, qui en tout cas sera très tardive.

Les cas observés présentent une grande ressemblance avec ceux des mélanges correspondants de toxine et d'antitoxine diphtérique, dits „toxones“. Eux aussi produisent un oedème passager, ne laissant aucune nécrose, et c'est le contraire de ce qui arrive pour la toxine pure. Ici encore, la toxicité observée reste bien au-dessous des calculs. Bien que la différence entre la toxine diphtérique et la toxine-antitoxine soit si grande, que dès l'abord elle conduisit à supposer l'existence d'un élément toxique spécial „les toxones“, elle n'est en aucune façon si tranchée en ce qui concerne la ricine. Ici, on peut l'interpréter sans difficulté comme seulement quantitative.

Si l'on compare la courbe de combinaison mesurée sur des hématies le 14/10 avec celle trouvée à l'aide des expériences sur animaux, récemment mentionnées et exécutées à peu près au même temps, on trouvera que, mesuré sur des hématies, 1 g de ricine est équivalent à 8,625 ccm de sérum — la constante de dissociation est — 0,026, et l'exposant de la puissance est 2, tandis que pour les expériences sur animaux 1 g de ricine est équivalent à 4,6 ccm de sérum, la constante de dissociation 0,00149 et l'exposant de la puissance $\frac{3}{2}$.

Naturellement, cette différence s'explique le plus facilement en supposant qu'il s'agit de deux substances différentes, comme les recherches de Cushny, de Fr. Müller et de Jacoby semblent le prouver.

L'interprétation la plus simple des observations communiquées serait donc, que la combinaison de la ricine avec l'antiricine suit la loi de Guldberg-Waage, et que la combinaison formée est partiellement dissociée, de sorte que dans un mélange donné de ricine et d'antiricine, on a devant soi un état d'équilibre entre la combinaison (ou les combinaisons) ricine-antiricine, ricine libre et antiricine libre.

Si tel est le cas, on serait, en dérangeant cet équilibre — par l'élimination d'un des composants — à même de décomposer la combinaison de ricine-antiricine.

Pour cela, on peut tirer parti de cette propriété de la ricine que les hématies l'absorbent à un degré bien plus élevé que d'antiricine.

On prépare un mélange de ricine et d'antiricine dans les proportions de 0,005 g de ricine — 0,08 ccm de sérum. On laisse ce mélange pendant 2 h. à 37°.

Des doses de jusqu'à 10 ccm de ce mélange ne provoquent chez les cobayes qu'un oedème passager sans nécrose; et sont très rarement suivies de mort, en ce cas la mort n'arrive qu'au bout de 8—10 jours.

On agite à 37°, 20 ccm du mélange avec autant de sang de lapin de 10% (on s'est aussi servi de sang de cobaye de 10%, avec le même résultat). Puis on centrifuge. 10—12 ccm du liquide clair surnageant n'influaient en aucune façon sur les

cobayes. Au contraire le liquide contenait à présent de l'anti-agglutinine libre. Tandis que les effets agglutinants de ce mélange pouvaient à peine être appréciés antérieurement, le centrifugat mélange à des parties égales de solution de ricine, abaisse l'effet agglutinatif de cette dernière à $\frac{1}{4}$. Une autre circonstance indique aussi la présence d'antiricine libre dans le centrifugat. Mélange à la solution de ricine, on observe un précipité abondant, ce qui n'est pas le cas pour le mélange avant qu'on l'ait agité avec les hématies; tout au plus, il se trouble un peu.

Qu'il y ait des quantités considérables de ricine libre dans les hématies éliminées à l'aide du centrifuge, c'est ce qu'on démontre facilement en les dissolvant dans de l'eau distillée.

On partage les solutions en deux parties égales, dont l'une est injectée à un cobaye, qui mourra au bout de trois jours; l'autre moitié est mélangée avec 1 ccm d'antiricine et injectée à un autre cobaye qui résiste sans aucun symptôme toxique. Pour plus de contrôle, on dissout dans de l'eau la même quantité d'hématies normales et on les injecte à un troisième cobaye qui reste sans réaction. Nombre d'expériences semblables donnèrent des résultats absolument concordants.

Il ressort de ce qui précède qu'un mélange de ricine-antiricine, à qualités toxiques et antitoxiques très faibles, peut être décomposé par un procédé convenable, de sorte que des quantités appréciables de ricine et d'antiricine seront mises en liberté (au cas précité au moins 2 doses m. m.).

Il est intéressant de comparer une série d'expériences importantes faites par Danysz sur un mélange de ricine et d'antiricine, non pathogène et ne contenant pas d'antiricine libre. Il trouva que dans un tel mélange on peut toujours retrouver la ricine en détruisant l'antiricine par une diastase protéolytique, et prouver l'existence de l'antiricine par les propriétés immunisantes du mélange.

On voit que ces expériences forment un pendant complet aux expériences précitées, avec cette seule différence que dans les nôtres l'équilibre fut troublé par l'élimination de la ricine libre, tandis que dans les expériences de Danysz, l'antiricine libre fut détruite. Ces deux séries d'observations constituent un fort indice de la justesse de l'opinion avancée plus haut, à savoir que la ricine forme une combinaison dissociable avec l'antiricine.

Or, on pourra prouver analoguement que la combinaison de la toxine diphtérique avec son antitoxine est également dissociable. Ici nous sommes aidés par cette circonstance que la vitesse de diffusion de la toxine diphtérique en gélatine est considérablement plus grande que celle de l'antitoxine diphtérique¹⁾.

On prépare un mélange de poison No. 471²⁾ dans la proportion de 2 ccm avec 12 unités d'immunisation. Cette quantité du mélange ne produit absolument aucun effet toxique sur les cobayes. Dans une série d'éprouvettes avec une solution de gélatine de 10% on verse le mélange de 2 ccm sur la colonne de gélatine; les verres sont laissés à 2 à 3°. On les sort successivement, on déverse ensuite le liquide surnageant; on lave soigneusement la surface de la gélatine avec une solution stérile de NaCl; puis on découpe la colonne de gélatine, on fond les morceaux et l'on détermine leur teneur en toxine ou en antitoxine. Comme exemple nous citerons une des expériences: l'éprouvette fut sortie au bout de 66 jours. On coupe $\frac{1}{4}$ ccm du bout extrême supérieur de la colonne, on le mélange avec 0,0035 ccm du poison No. 471 (la dose minima absolument mortelle); on l'injecte à un cobaye. L'animal résiste. Il paraît donc qu'une quantité restreinte d'antitoxine se trouve diffuse dans les couches supérieures de la gélatine. Puis, on fond les 10 ccm suivants. Une moitié tue un cobaye au bout de 4 jours¹⁾. On mélange l'autre moitié avec 400 unités d'immunisation; elle provoque chez les cobayes un oedème passager semblable à celui qui suit une injection sous-cutanée de la quantité correspondante de gélatine seule.

Une série de nouvelles expériences donnèrent des résultats analogues.

1) Arrhenius et Madsen, On the molecular weight of diphtheria toxin. Festschrift l. c.

2) Sur la const. du poison diphtérique. l. c.

Il ressort donc de ce qui précède, qu'on peut extraire par diffusion d'un mélange tout à fait inactif de toxine avec antitoxine plusieurs doses minima mortelles; il reste donc positivement démontré, à notre avis, que la combinaison du poison diphtérique avec son antitoxine est dissociable.

Il paraît toutefois être une condition nécessaire pour la réussite de l'expérience ci-dessus qu'elle sera faite avec un mélange frais de toxine-antitoxine, car, au bout de quelque temps de conservation il semble que la dissociation se fasse avec difficulté.

Les relations de diffusion auxquelles sont sujets les poisons et mélanges de poison variant selon les circonstances (organisme, mode d'introduction), on comprend donc aisément qu'un mélange de toxine-antitoxine peut offrir une toxicité très variable selon les circonstances extérieures.

On peut résumer comme il suit le résultat des recherches précédentes :

1) Les oscillations dans la force de l'antiricine, observées chez un animal activement immunisé, suivent les lois connues et valables pour d'autres anti-corps.

2) La combinaison de l'agglutinine de ricine avec l'antiricine suit la loi de Guldberg-Waage, et se laisse facilement exprimer par la même formule qui est aussi valable pour la tétanolysine et pour la toxine diphtérique.

3) Il en est de même quant aux effets de la ricine sur l'organisme. Cependant, cette combinaison diffère en plusieurs points essentiels de celle de l'agglutinine.

4) La combinaison étant, dans les deux cas, partiellement dissociée dans ses éléments, il n'y a pas de point de neutralisation: augmente-t-on la quantité de d'antiricine au-dessus de la quantité équivalente, la quantité de ricine libre décroît de plus en plus lentement, mais ne disparaît jamais tout à fait.

5) Les mélanges de ricine avec des quantités relativement grandes d'antiricine ont une grande ressemblance avec les mélanges correspondants de la toxine diphtérique. Par opposition à la ricine pure, ils ne produisent aucune nécrose, et la toxicité observée est au-dessous de la toxicité calculée. Ceci s'explique peut-être par un abaissement de la vitesse de réaction provoquée par une concentration élevée de l'antitoxine.

6) Un mélange de ricine-antiricine sans effets physiologiques peut de nouveau être décomposé dans ses éléments.

7) Il en est de même d'un mélange analogue de toxine diphtérique avec antitoxine diphtérique.

8) On peut donc prouver directement que toutes les deux combinaisons sont dissociables.

9) Les irrégularités de la réaction qui ont autrefois conduit à supposer des „prototoxoïdes“ sont inconstantes, et il se peut qu'elles proviennent d'autres facteurs que des modifications spéciales de la toxine.

Ainsi, on est parvenu à donner une interprétation simple de la combinaison de la toxine avec l'antitoxine quant à la tétanolysine et la ricine. Nous avons obtenu des résultats analogues pour d'autres poisons: staphylolysine, streptolylysine, vibriolylysine, venin, présure, tétanospasmine.

En commençant ces études par la toxine diphtérique, nous avons peut-être pris un cas moins favorable, dont l'interprétation offrait certaines difficultés. Si dans l'état actuel de nos connaissances nous con-

sidérons cette toxine, il sera difficile de douter que les observations présentes ne se rangent aisément dans le système commun, applicable aux autres toxines. Cela semble plus naturel que de donner encore à la toxine diphtérique une place à part, comme étant un corps extrêmement compliquée.

Nachdruck verboten.

Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal.

[Institut bactériologique de l'Université de Liège (Dr. E. Malvoz).]

Par Yvo Pirenne.

On sait qu'il existe deux catégories de sérums bactéricides: les uns proviennent d'animaux normaux, n'ayant subi aucun traitement, les autres de sujets préalablement injectés de microbes et soumis ainsi aux processus de l'immunité active.

A la première catégorie appartiennent notamment les sérums de lapin et de rat qui, normalement, sont capables de détruire un certain nombre de microbes pathogènes, et particulièrement le bacille du charbon. Le type des sérums de la deuxième catégorie est représenté par le choléra-sérum obtenu chez des animaux dont les humeurs normales n'ont qu'une action très faible sur les vibrions de Koch mais qui deviennent fortement vibronicides, même *in vitro*, par l'immunisation.

Tandis que les propriétés du choléra-sérum sont aujourd'hui parfaitement connues, grâce aux travaux classiques de Pfeiffer, Bordet etc., la plus grande obscurité continue à régner sur les causes du pouvoir bactéricide de certains sérums normaux. On a pu démontrer que le choléra-sérum renferme des substances spécifiques (agglutinines et sensibilisatrices) qui ne détruisent les vibrions qu'avec l'aide d'une substance normale du sérum, l'alexine de Buchner.

Mais quand il s'agit de l'activité bactéricide des sérums normaux, on ignore encore si le mécanisme de la destruction des microbes est le même que dans le cas du sérum spécifique représenté par le type choléra-sérum. Pour prendre un exemple concret, on ne sait pas encore d'une façon précise si le sérum de rat détruit les bactériidies du charbon, grâce à la collaboration de deux substances, une alexine et une sensibilisatrice, ou s'il n'est pas question d'une propriété toute différente du sérum.

La question se rattache à une de celles qui sont encore le plus discutées à l'heure actuelle en bactériologie.

Dans le but de compléter nos connaissances encore si imparfaites dans ce chapitre particulier de l'étude de l'immunité naturelle, envisagé dans ses rapports avec le pouvoir bactéricide des sérums, nous avons, sur les conseils de M. le professeur Malvoz, institué une série de recherches sur le sérum de rat, qui jouit d'un pouvoir destructeur très prononcé sur la bactériidie du charbon, découverte faite pour la première fois par Behring et confirmée par de très nombreux observateurs. Nous avons choisi le sérum de rat, plutôt que celui du lapin, parce que quelques essais préliminaires nous avaient montré que la propriété bactéricide du sérum de lapin vis-à-vis du charbon n'est pas constante: on observe d'assez grandes différences individuelles d'un animal à l'autre,

tandis que chez le rat, cette propriété se retrouve avec une fixité remarquable, qu'il s'agisse de rats gris d'égoût ou de rats blancs de laboratoire.

Voici les principaux points que nos recherches ont pour but d'éclaircir :

1) L'activité bactéricide bien connue du sérum de rat vis-à-vis du charbon ne s'exerce-t-elle pas vis-à-vis d'autres microbes ?

2) Le mécanisme de la destruction des divers microbes par le sérum de rat est-il dû à la mise en jeu d'une seule substance active ou, au contraire, s'agit-il de manifestations de causes différentes ?

Les substances bactéricides du sérum de rat ont-elles les caractères généraux des substances actives des sérums spécifiques (alexine et sensibilisatrice), et quelles sont éventuellement leurs relations avec l'immunité naturelle ? Les alexines microbicides sont-elles identiques à l'alexine hémolytique ?

I.

Le pouvoir bactéricide du sérum de rat est une propriété s'exerçant sur des microbes très variés.

Disons, une fois pour toutes, que la détermination du pouvoir bactéricide a été faite par la méthode des plaques de gélatine nutritive ensemencées avec une quantité déterminée de microbes.

Bien qu'il s'agisse là d'une méthode classique, il importe d'indiquer notre manière de procéder, car les résultats discordants obtenus par plusieurs auteurs sont dûs, en partie, au *modus operandi*.

Le sérum était obtenu par une saignée aseptique à la carotide, en introduisant dans celle-ci, après ligature du bout périphérique, l'extrémité très finement étirée d'un tube de verre stérilisé. On réussit ainsi à obtenir, après coagulation, de 2 à 4 ccm de sérum par animal. Il a fallu naturellement pour obtenir les quantités relativement considérables de sérum qui nous étaient nécessaires sacrifier un grand nombre d'animaux. On a souvent objecté au choix du bacille du charbon pour l'étude des sérums bactéricides la difficulté de préparer des émulsions homogènes de la bactériémie, ce qui entraîne une cause d'erreur dans les numérations des colonies qui se développent sur les plaques de gélatine, une colonie pouvant se former non pas aux dépens d'un élément microbien mais d'un véritable amas bacillaire.

C'est une objection sérieuse en effet : mais en nous adressant au premier vaccin du charbon, on obtient des bacilles qui s'émulsionnent pour ainsi dire individuellement dans l'eau physiologique, en les prélevant d'une culture très fraîche sur agar à 20 degrés, que l'on triture soigneusement dans le liquide.

Nous avons pu également disposer d'une culture de bacilles du charbon virulent préparée par M. Malfitano de l'Institut Pasteur, et qui s'émulsionnait plus facilement que la bactériémie charbonneuse ordinaire : nous l'appellerons charbon Malfitano.

Pour chaque essai du pouvoir bactéricide, on introduisait 5 grosses gouttes du sérum à étudier dans un petit tube à bout conique stérilisé, on y délayait une ou deux anses de l'émulsion bacillaire. Après agitation, on ensemence une anse de ce mélange dans 10 ccm de gélatine nutritive liquéfiée, on agite puis on coule dans une plaque Petri stérilisée : cette première culture donnera le nombre approximatif de bacilles dans une anse de mélange au moment de l'ensemencement.

On répète la même opération après 5 heures et encore après 24

heures, en ayant soin d'agiter soigneusement le mélange avant le prélèvement; on se sert toujours de la même anse de platine. Les plaques de culture sont tenues en observation pendant plusieurs jours à 22 degrés centigrades. On fait, au moment voulu, la numération soigneuse des colonies microbiennes. Ce procédé très simple nous a donné des résultats très comparables entre eux et nous le croyons le plus pratique de tous ceux qui ont été proposés pour l'étude du pouvoir bactéricide: le nombre de bacilles introduits dans le sérum est relativement faible en proportion de la quantité de sérum et il n'est pas, non plus, tellement petit que l'on puisse attribuer la destruction des microbes à de simples changements de milieu. Voici d'ailleurs quelques chiffres montrant nettement le pouvoir bactéricide bien connu du sérum de rat même dilué au $\frac{1}{8}$. (Tableau I.)

Tableau I.
Action bactéricide du sérum de rat vis-à-vis du charbon.

Eléments en contact	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 4 heures	après 24 heures
Sérum de rat frais, 5 gouttes 1 anse d'émulsion de vaccin de charbon	420	44	0
Sérum de rat frais, 5 gouttes 1 anse d'émulsion de charbon Malfitano	2976	1596	106
Sérum de rat dilué avec partie égale d'eau physiologique Vaccin de charbon	400	40	0
Sérum de rat dilué au $\frac{1}{8}$ Vaccin du charbon	144	20	8

Nous avons éprouvé l'action du sérum de rat sur toute une série de microbes d'espèces différentes; les résultats sont transcrits dans le Tableau II.

Tableau II.
Action bactéricide du sérum de rat sur diverses espèces microbiennes.

Espèces microbiennes	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 4 heures	après 24 heures
Bacillus anthracis	∞	40	0
Bacillus mesentericus	∞	9	0
Proteus mirabilis	∞	∞	∞
Bacterium coli	∞	∞	∞
Proteus vulgaris	∞	∞	∞
Bacillus pyocyaneus	∞	∞	∞
Bacillus mycoides	16	0	0
Bacillus megaterium	∞	10	0
Bacillus subtilis A	∞	14	0
Bacillus subtilis B	∞	0	0
Spirillum cholerae asiaticae	∞	0	0

N.B. Le signe ∞ indique des colonies tellement serrées sur les plaques, que l'on ne peut faire une numération convenable. Le nombre est de 3000 environ.

Ce tableau met en évidence un fait absolument remarquable. C'est qu'il existe toute une série de microbes qui sont tout aussi facilement détruits que le bacille du charbon par le sérum de rat.

Ces microbes appartiennent à deux catégories d'éléments, les uns tels que le bacille du choléra, qui sont bien connus comme particulièrement fragiles; les autres tels que le *Mesentericus*, le *Bacillus subtilis*, le *Megaterium*, le *Mycoides*, etc., qui appartiennent à la même famille naturelle que le *Bacillus anthracis*.

D'après le traité classique de bactériologie de Lehmann et Neumann, en effet, les *Bacillus anthracis*, *mycoides*, *subtilis*, *megaterium*, *mesentericus*, etc. forment un groupe d'une même famille naturelle de bacilles liquéfiant la gélatine, coagulant puis décoagulant le lait, se colorant par le Gram, etc. On pourrait ajouter à ces caractères leur sensibilité particulière, de cause absolument inconnue d'ailleurs, vis-à-vis du sérum de rat.

D'autres microbes par contre, tels que le *Bacterium coli*, le *Proteus*, le *Bacillus pyocyaneus*, se sont montrés absolument insensibles à l'action destructive du sérum de rat.

II.

Le mécanisme de la destruction des divers microbes par le sérum de rat est-il dû à la mise en jeu d'une seule et même substance active?

Le sérum de rat détruit facilement toute une série de microbes, dont deux espèces doivent fixer notre attention parce qu'il s'agit de microorganismes essentiellement pathogènes et dont le rôle est très important: le bacille du charbon d'une part, le vibrion du choléra de l'autre. Pour la facilité de l'exposition, nous appellerons bactéricide l'action exercée sur la bactérie du charbon et vibrionicide sur le bacille-virgule du choléra. Rien a priori ne nous autorise à dire que cette action microbicide reconnaisse le même mécanisme dans les deux cas. Il se peut qu'un sérum déterminé exerce son action bactéricide sur telle espèce d'éléments grâce à l'intervention d'une substance donnée, tandis que vis-à-vis d'autres microbes, l'activité soit due à une ou plusieurs substances: différant entièrement de la première. Il importe de pénétrer à fond l'étude de ce mécanisme de destruction microbienne par un sérum normal si l'on veut faire intervenir cette propriété dans l'interprétation de l'immunité naturelle. Or, des différences très prononcées apparaissent dans ces propriétés bactéricide et vibrionicide du sérum de rat envisagées à toute une série de points de vue.

1) **Agglutination.** On sait que les sérums microbicides spécifiques, tels que le choléra-sérum, le typhus sérum, agglutinent fortement les émulsions microbiennes.

Comment se comporte, à ce point de vue, le sérum de rat vis-à-vis du charbon d'une part, du choléra de l'autre?

Nos essais vis-à-vis du charbon (vaccin I et Malfitano) sont restés complètement négatifs: même à parties égales de sérum et d'émulsion, on n'observe pas de formation d'amas bacillaires; mêmes résultats avec le sérum plus ou moins dilué.

Au contraire, le sérum normal de rat a le pouvoir d'agglutiner très fortement, en amas composés de nombreux vibrions, le bacille-virgule de Koch. Même dilué à 1 p. 50, le sérum provoque encore la formation de grands amas de microbes cholériques.

La mort du bacille du choléra sous l'influence du sérum de rat est donc précédée de l'agglutination des microbes, comme sous l'influence d'un sérum spécifique; au contraire le sérum tue le charbon sans modifications aboutissant à l'agglutination.

2) Influence du chauffage.

On sait, par tous les travaux classiques concernant le sérum de rat que le microbe du charbon est encore détruit par ce sérum chauffé à 56°¹⁾; c'est là une différence entre ce sérum et les sérums bactéricides obtenus par immunisation. Comment agit le sérum de rat chauffé à 56° sur le bacille virgule de Koch? Nos sérums frais ont été recueillis en pipettes d'1 ccm scellées aux deux bouts et plongées pendant 40 minutes dans un bain marie soigneusement maintenu à 56°. Il importe que la température ne subisse pas le moindre abaissement et que la durée de chauffage ne soit pas écourtée, sinon on obtient des résultats différents.

Le Tableau III donne les résultats obtenus.

Tableau III.

Action comparative du sérum de rat chauffé sur le charbon et le vibrion cholérique.

Éléments en contact	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 2 heures	après 24 heures
Sérum de rat frais non chauffé Charbon vaccin I	410	40	0
Sérum de rat frais chauffé 40 minutes à 56° Charbon vaccin I	320	18	0
Sérum de rat frais non chauffé Cholera asiatique	598	43	0
Sérum de rat frais chauffé Cholera asiatique	1512	988	648
Sérum de rat frais chauffé Bacillus subtilis	2176	304	52
Sérum de rat frais chauffé Mesentericus	3186	280	44

A première vue, l'inspection de ce tableau ferait croire à une certaine action vibrionicide du sérum de rat chauffé à 56°, mais la diminution du nombre des colonies renseignée dans le tableau — nullement comparable d'ailleurs à l'action destructrice totale du sérum non chauffé — est due à l'action agglutinante très prononcée du sérum de rat sur le choléra, chaque flocon de vibrions ne donnant qu'une colonie sur les plaques. Le sérum de rat chauffé ne détruit pas le vibrion de Koch.

Bordet²⁾ avait déjà observé que le sérum de rat chauffé à 56° ne produit plus le phénomène de Pfeiffer, c'est-à-dire la transformation en granules des bacilles-virgules sensibilisés par le choléra-sérum chauffé. Nous avons répété cette expérience de Bordet sur des vibrions sensibilisés par du sérum chauffé d'un cobaye immunisé contre le choléra et, quelles que soient les conditions les plus variées des essais, nous

1) Cette découverte a été faite pour la première fois, croyons-nous, par M. Sawtchenko.

2) Bordet, Annales Pasteur. 1899. p. 291.

avons toujours obtenu le même résultat négatif au moyen du sérum de rat chauffé à 56° pendant 40 minutes.

Le sérum normal de rat, très actif sur le choléra, se comporte donc vis-à-vis de ce microbe comme un véritable sérum spécifique, en ce sens que cette activité spéciale disparaît après chauffage à 56° contrairement au pouvoir bactéricide sur le charbon.

Le Tableau III montre que les *Bacillus subtilis* et *mesentericus* se comportent, à ce point de vue, comme le charbon.

Au point de vue de l'action du chauffage, l'alexine vibrionicide du sérum normal de rat se comporte absolument comme l'alexine hémolytique.

On sait que celle-ci est détruite ou disparaît après un chauffage du sérum à 56° pendant 30 à 40 minutes.

L'alexine hémolytique du sérum de rat ne diffère pas de celle de tous les autres sérums. Nous avons pu nous en assurer notamment au moyen d'hématies de poule sensibilisées par un sérum chauffé lapin-poule. Le sérum de rat non chauffé détruit énergiquement ces hématies; chauffé 40 minutes à 56° il devient complètement incapable de provoquer l'hémolyse.

Donc, au point de vue de l'action du chauffage, la substance vibrionicide du sérum de rat se comporte comme l'alexine hémolytique, tandis que le principe bactéricide pour le charbon et les microbes de la même famille naturelle apparaît tout différent de l'alexine de Buchner.

3) Influence de l'abandon du sérum à lui-même.

On sait que l'alexine de Buchner est une substance très fragile qui disparaît rapidement du sérum.

Nous avons abandonné pendant plusieurs mois à la glacière du sérum de rat non chauffé en tubes scellés et de temps en temps nous en avons prélevé un échantillon pour l'examiner au point de vue hémolytique, vibrionicide et bactéricide. Le sérum est resté parfaitement stérile. Les tableaux IV, V et VI donnent les résultats obtenus.

On voit notamment que l'alexine hémolytique¹⁾ du sérum de rat paraît plus résistante que d'autres alexines telles que celle du cobaye; il a fallu laisser le sérum de rat plus de semaines à la glacière pour constater la disparition totale de l'alexine hémolytique tandis qu'après 5 jours celui du cobaye était déjà inactif. Le pouvoir vibrionicide a marché de pair avec le pouvoir hémolytique, en ce sens qu'il a disparu avec ce dernier.

Tableau IV.

Différenciation des alexines hémolytiques du sérum de rat et du sérum de cobaye au point de vue de leur résistance à la conservation.

Melanges	Conservé 1 jour à la glacière	Conservé 5 jours	Conservé 12 jours	Conservé 25 jours	Conservé 28 jours
Sérum de rat non chauffé + hématies de poule sensibilisées	hémolyse complète en 1/2 heure	hémolyse complète en 1/2 heure	hémolyse en 1 heure	hémolyse en 12 heures	pas d'hémolyse
Sérum de cobaye non chauffé + id.	id.	pas d'hémolyse	pas d'hémolyse	pas d'hémolyse	pas d'hémolyse

1) D'après une communication orale de M. Nolf, la durée moyenne de conservation des alexines hémolytiques à la glacière est de 15 à 20 jours maximum.

Au contraire, la substance bactéricide pour le charbon s'est maintenue, même après 230 jours à la glacière; alors que le sérum de rat était depuis longtemps complètement dépouillé d'alexine hémolytique et vibrionicide, le principe actif sur le charbon n'était pas détruit après plusieurs mois. Il paraît donc s'agir ici d'une substance très stable, toute différente des alexines.

Tableau V.

Action bactéricide du sérum de rat privé d'alexine hémolytique après abandon à lui-même.

Éléments en contact	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 5 heures	après 24 heures
Sérum de rat non chauffé après 5 jours à la glacière Charbon vaccin I	394	12	6
Sérum de rat non chauffé après 40 jours à la glacière ayant perdu son alexine hémolytique Charbon vaccin I	912	42	12
Sérum de rat non chauffé après 230 jours à la glacière Charbon vaccin I	524	64	10

Tableau VI.

Éléments en contact	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 5 heures	après 24 heures
Sérum de rat non chauffé, conservé 40 jours à la glacière Cholera asiatique	∞	∞	∞
Sérum de rat frais Cholera	∞	420	0
Sérum de rat, conservé 40 jours à la glacière Charbon vaccin I	912	42	12

4) Filtration du sérum sur bougie Chamberland.

L'état colloïdal est-il aussi accusé, pour la substance bactéricide que pour l'alexine hémolytique? Nous avons filtré du sérum de rat sur bougie Chamberland, marque F et à la température de 37° pour faciliter le passage de ce liquide épais.

Nous avons ensuite éprouvé le liquide filtré au double point de vue bactéricide et hémolytique. Nous avons constaté que le filtrat possédait une activité bactéricide aussi énergique que le sérum lui-même. Par contre, il était devenu incapable de dissoudre les globules de poule sensibilisés par le sérum lapin-poule chauffé: l'alexine hémolytique n'avait donc pas franchi la bougie Chamberland.

Le passage de la substance bactéricide à travers le filtre de porcelaine et la retenue de l'alexine hémolytique fournissent une nouvelle preuve en faveur de la dissociation de ces curieuses propriétés du sérum de rat.

5) Neutralisation.

Il a été démontré par plusieurs observateurs et pour la première fois, par Behring que le sérum de rat perd son activité bactéricide pour le charbon quand il a été neutralisé: c'est un fait classique pour ainsi dire. En est-il de même du pouvoir vibrionicide? Pour résoudre cette question nous avons neutralisé du sérum de rat au moyen d'acide acétique jusqu'à inactivité sur le papier bleu de tournesol.

Nous en avons réalcalinisé ensuite une partie en ajoutant une quantité de carbonate de soude capable de neutraliser exactement la quantité d'acide acétique employée en premier lieu.

Nous avons ensuite éprouvé l'action vibrionicide du sérum neutralisé et réalcalinisé. Ainsi qu'on pourra le voir par les chiffres du tableau VII, le sérum tant neutralisé que réalcalinisé est parfaitement capable de détruire les vibrions cholériques.

Comme nous pensons que la substance vibrionicide n'est autre que l'alexine banale des sérums, capable de produire l'hémolyse, le phénomène de Pfeiffer etc. nous avons recherché si on pouvait encore obtenir ce phénomène de Pfeiffer au moyen du sérum neutralisé. Les bacilles-virgules sensibilisés par le choléra-sérum chauffé sont transformés en boules tant par le sérum neutralisé que par le sérum réalcalinisé et le sérum normal frais. — Tableau VIII.

Tableau VII.
Action vibrionicide du sérum de rat neutralisé.

Éléments en contact	Nombre de colonies		
	après 5 minutes	après 5 heures	après 24 heures
Sérum de rat frais + charbon vaccin I	852	32	0
Sérum de rat neutralisé + charbon vaccin I	∞	∞	∞
Sérum de rat frais + choléra asiatique	∞	0	0
Sérum de rat neutralisé + choléra asiatique	2208	14	0
Sérum de rat neutralisé puis réalcalinisé	1804	40	0

Tableau VIII.

Éléments en contact	Phénomène de Pfeiffer
Vibrions de Koch sensibilisés + sérum de rat frais (témoin)	Transformation totale en boules + agglutination
Vibrions de Koch sensibilisés + sérum de rat neutralisé	Transformation en boules + agglutination
Vibrions de Koch sensibilisés + sérum de rat neutralisé et réalcalinisé	Transformation totale en boules + agglutination
Vibrions de Koch sensibilisés + sérum de rat chauffé (témoin)	Pas de boules + agglutination des vibrions intacts

On voit que la neutralisation nous a fourni un moyen précieux de dissocier très nettement les propriétés vibrionicide et bactéricide; elles nous permet d'avancer non seulement que les substances

correspondantes sont distinctes mais encore qu'elles sont d'essence ou si l'on veut de nature très différente.

6) Dépouillement de l'alexine de Buchner par des hématies sensibilisées.

Afin de bien montrer que l'alexine et la substance bactéricide sont différentes, nous avons fait plusieurs essais au moyen de sérum dépouillé de son alexine hémolytique en le traitant à plusieurs reprises par de fortes doses d'hématies de poule (préalablement sensibilisées par le sérum lapin-poule chauffé et lavées après cette sensibilisation).

Après un certain temps de contact entre sérum de rat et hématies, ces dernières sont isolées par centrifugation du reste du liquide qui est alors décanté et additionné d'une nouvelle dose d'hématies sensibilisées.

On arrive assez vite après plusieurs additions de globules rouges et par des passages successifs à la centrifugeuse à débarrasser le sérum de rat de toute l'alexine hémolytique qu'il peut contenir. Dès que nous avons eu constaté que le liquide surnageant n'était plus hémolytique, nous l'avons vérifié au point de vue microbicide pour la bactérie charbonneuse et le vibrion cholérique.

La propriété bactéricide est toujours manifeste, presque aussi intense que dans le sérum témoin.

Par contre l'action vibrionicide a complètement disparu. L'alexine normale du sang de rat s'est encore montrée dans ces essais toute différente de la substance bactéricide.

7) Analyse de l'humeur aqueuse.

L'analyse de l'humeur aqueuse de rat nous a démontré à nouveau l'indépendance de la propriété alexique et vibrionicide proprement dite et du pouvoir microbicide pour la bactérie charbonneuse. Nous avons réussi, en ponctionnant au moyen d'une très fine pipette la cornée des deux yeux chez quatre rats à recueillir assez d'humeur aqueuse pour des essais de ce genre, ne nécessitant que quelques gouttes de liquide.

Cette humeur aqueuse s'est montrée complètement incapable soit de dissoudre des globules de poule sensibilisés soit de transformer en boules les vibrions cholériques traités par le choléra sérum chauffé. De plus ce liquide oculaire n'exerce pas d'action microbicide sur le vibrion cholérique ainsi que nous l'a montré la méthode des plaques. Il est donc dépourvu d'alexine proprement dite.

Par contre il s'est montré nettement microbicide pour la bactérie charbonneuse mais à la vérité moins énergiquement que le sérum.

* * *

De l'étude comparée des propriétés hémolytique, vibrionicide et bactéricide du sérum de rat, il ressort donc avec beaucoup de netteté, nous paraît-il, que le mécanisme de la destruction du bacille charbonneux par le sérum est bien différent de celui qui est en jeu, quand il s'agit de l'activité correspondante vis-à-vis des vibrions cholériques.

La substance vibrionicide se comporte tout à fait comme l'alexine hémolytique normale du sérum et paraît s'identifier en partie avec celle-ci. C'est, en résumé, cette substance qui disparaît par le chauffage à 56°, qui persiste relativement peu de temps dans le sérum conservé à la glacière, qui est retenue par le filtre Chamberland, qui résiste à la neutralisation, qui est enlevée au sérum par les hématies sensibilisées, et qui fait défaut dans l'humeur aqueuse de rat. Par contre,

la substance bactéricide pour le charbon présente tous les caractères opposés à ceux que nous venons d'énumérer.

De plus le pouvoir vibrionicide est accompagné de l'action d'une agglutinine cholérique spécifique tandis que le sérum de rat est totalement privé d'action floculante sur le *Bacillus anthracis*.]

III.

Quel résultat donne la recherche des sensibilisatrices ou fixateurs dans ce sérum de rat, pour la bactériodie charbonneuse d'une part, pour le vibrion cholérique d'autre part?

Les recherches de M. Malvoz¹⁾ que les nôtres ont eu précisément pour but de compléter, établissent que le sérum de rat, soumis à l'essai de Bordet-Gengou, ne renferme pas de sensibilisatrices pour le bacille du charbon, contrairement à celui du chien. Nous renvoyons à son travail pour le détail de ces expériences que nous avons pu confirmer par des essais consistant à éprouver, non pas comme l'avait fait M. Malvoz, des hématies sensibilisées, mais bien des vibrions de Koch. Si nous laissons en contact pendant quelques heures, suivant la méthode de Bordet et dans les proportions indiquées par celui-ci (point très important) des bacilles du charbon, du sérum de rat chauffé à 56° et de l'alexine de rat ou de cobaye, ce mélange est toujours capable de provoquer le phénomène de Pfeiffer in vitro sur les bacilles virgules sensibilisés par un choléra-sérum de cobaye chauffé à 56°.

Toutes les boules ou granules cholériques apparaissent avec la même netteté et la même rapidité qu'avec le mélange témoin, où il n'y a que de l'alexine et des bacilles du charbon.

La méthode expérimentale ne nous révèle donc pas de sensibilisatrices pour le charbon dans le sérum de rat, puisque l'alexine est restée en liberté dans le mélange.

Les sensibilisatrices pour le choléra font-elles également défaut dans le sérum de rat?

On sait que le choléra-sérum obtenu en injectant des vibrions de Koch au cobaye, présente la propriété de tuer un grand nombre de bacilles virgules: ce sérum est à la fois agglutinant et sensibilisateur in vitro. Si l'on prend, par exemple, une émulsion de vibrions du choléra de culture très jeune sur gélose, et si l'on y ajoute partie égale de choléra-sérum chauffé à 56°, on obtient une agglutination mais les bacilles virgules ne changent en aucune façon de forme; ajoutons y partie égale de sérum très frais de cobaye, c'est-à-dire de l'alexine même diluée au $\frac{1}{10}$, nous constaterons après deux heures de contact à 37° en goutte pendante, comme Bordet l'a si bien décrit, la transformation presque complète des vibrions agglutinés, en boules ou granules.

Lorsque les bacilles virgules n'ont pas été sensibilisés par le sérum spécifique, on n'obtient, par l'addition d'alexine de cobaye, qu'une agglutination absolument rudimentaire et à peine voit-on par ci par là un bacille transformé en granule: la différence d'aspect est des plus évidente et saute véritablement aux yeux.

Nous avons fait toute cette série d'essais en remplaçant le choléra-sérum de cobaye par le sérum de rat normal chauffé à 56°, et le même

1) Malvoz, Fixateurs du sérum normal. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. Août.)

sérum non chauffé mais vieux de deux mois, donc débarrassé sûrement de son alexine hémolytique et vibrionicide.

Nous avons constaté que ces deux sérums de rat exercent une action agglutinante très énergique sur le bacille cholérique. De plus, lorsque nous y ajoutons une trace d'alexine très fraîche (sérum frais non chauffé) de cobaye dilué au $\frac{1}{10}$, après 2 heures environ de contact à 37° en goutte pendante, une magnifique transformation en boules ou granules, tout à fait complète, s'opère, et il devient totalement impossible de différencier ce phénomène de celui que l'on provoque en employant le choléra-sérum spécifique.

Notons aussi que nous avons constaté in vivo l'existence du phénomène de Pfeiffer chez le rat.

Nous avons injecté à ces animaux une émulsion de vibrions de Koch en eau physiologique dans la cavité abdominale et examiné le liquide péritoneal après 1 heure, 3 heures, 5 heures, par le procédé des ponctions en tube capillaire.

Déjà même après une heure il ne nous était plus possible de trouver un seul vibron normal: tous étaient transformés en granules sphériques agglutinés en amas caractéristiques avec la même netteté que nous avons observé le phénomène in vitro sous l'action du sérum, et qu'on le voit chez les cobayes immunisés.

Il faut donc admettre l'existence dans le sérum de rat d'une sensibilisatrice pour le vibron de Koch.

La fragilité bien connue de ce microbe explique parfaitement sa destruction quand on le soumet à l'action du sérum de rat frais non chauffé, qui renferme un véritable fixateur spécifique rendant ce microbe très sensible à l'action de l'alexine de ce sérum.

On ne peut trouver d'autre interprétation des constatations faites dans le présent travail.

Ces résultats sont d'ailleurs en parfait accord avec ceux de Levaditi¹⁾ qui croit à l'existence d'une sensibilisatrice pour le choléra dans certains sérums normaux, mais qui ne s'est pas occupé spécialement de la question du pouvoir bactéricide qui nous a intéressé particulièrement.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft,
Kunst und Literatur in Böhmen.

X. Die künstliche Immunität des Kaninchens.

Von Professor Dr. Oskar Ball, Assistenten des Institutes.

Frühere Untersuchungen²⁾ hatten den Nachweis erbracht, daß die außerordentlich starken milzbrandtötenden Eigenschaften des Serums für

1) Levaditi, Etat de la cytase dans le plasma. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. Décembre.)

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 445.

die natürliche Widerstandsfähigkeit des Kaninchens gegen die Milzbrandinfektion nicht in Betracht kommen, da etwas der Abtötung *in vitro* Ähnliches höchstens unter besonderen Verhältnissen im Körper stattfinden kann. Der Grund hierfür liegt in der großen Affinität fast aller Körperzellen des Kaninchens zu dem Immunkörper, der sich im Reagenzglasversuche an der Bacillenvernichtung beteiligt. Dafür, daß es sich dabei nicht um eine Wirkung toter Zellen handelt, daß also das Gefundene auf die Verhältnisse im lebenden Tiere anwendbar ist, gibt es eine Reihe von Beweisen, die zum Teil bereits in einer eingehenden Untersuchung über analoge Befunde bei Typhus, Cholera, Staphylococcus von Hoke¹⁾ hervorgehoben sind: 1) Die Organe erstickter Kaninchen mit vollem Blutgehalte, noch lebenswarm in Untersuchung genommen, sind wirkungslos. 2) Zellen, die lange überleben, wie Sperma, zum Teil auch Leukocyten, heben die Wirkung des Serums auf. 3) Der Umstand, daß dieselben Organzellen dasselbe Serum für Milzbrand seiner Immunkörper, für die Hämolyse seiner Komplemente gebrauchen. Eine solche Auswahl sieht wie ein Lebensvorgang aus, und das Gleiche gilt von der Tatsache, daß 4) andere bei Immunisierungen auftretenden Stoffe, wie Antitoxine, Agglutinine, durch Berührung mit Organzellen gar nicht oder nicht wesentlich verändert werden. 5) Die Organe eines und desselben Kaninchens wirken auf verschiedene Sera ganz verschieden ein. Das Kaninchenserum wird von allen Organen, meist auch vom Knochenmarke, unwirksam gemacht, Ochsen- oder Ziegen Serum wird durch einige derselben erst keimtötend. 6) Die schon von Wyssokowitsch hervorgehobene Tatsache, daß das erste Wachstum injizierter Bacillen nur in den Organen stattfindet. Dazu kommt 7) noch die Erscheinung, daß im immunen Tiere das Verhältnis sich ändert und daß andere bakterizide Quellen, z. B. Knochenmarkzellen, unter solchen Umständen nicht versiegen. Ubrigens nimmt auch Sachs²⁾ für Hämolyse während des Lebens eine Verankerung der aktiven Serumstoffe durch die Organe an, wenigstens bezüglich der hämolytischen Komplemente nach den Versuchen v. Dungern³⁾, denen sich die Hokes⁴⁾ an Leukocyten und leukocytenhaltigen Organen anschließen.

In Wirklichkeit kommt für die Milzbrandinfektion beim Kaninchen aller Wahrscheinlichkeit nach der leukocyten Apparat als wesentlicher Teil des Abwehrmechanismus in Betracht, genau so wie beim natürlich immunen Huhne und beim künstlich immunisierten Hunde. Dafür spricht namentlich der Umstand, daß Kaninchen und selbst die so überaus empfindlichen Meerschweinchen im ersten Stadium der Infektion eine deutliche bakterizide Wirkung des Knochenmarkes aufweisen. Solche Versuche gelingen nicht regelmäßig, was wohl seinen Grund in der auch von Tier zu Tier der gleichen Art etwas wechselnden Empfänglichkeit (individuelle Disposition) hat und in der daraus sich ergebenden Schwierigkeit, den richtigen Zeitpunkt des Versuches zu treffen. Ist dies aber gelungen, so wirken die erhaltenen Resultate überzeugend. Zu den bereits im VIII. Abschnitte dieser Untersuchungen angeführten Beispielen sei ein weiteres hinzugefügt, bei dem es sich um ein Kaninchen handelte, welches als Kontrolle für ein immunisiertes diente.

1) Hoke, Zeitschr. f. Heilk. 1904.

2) Sachs, Die Hämolyse. Wiesbaden 1902. p. 51.

3) v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 677.

4) Hoke, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 692.

Tabelle I.

Immunkaninchen 23 und normales Kontrolltier 63 erhalten $\frac{1}{800}$ Oese Milzbrand intravenös und werden 10 Stunden später verblutet. Die Milz ist bei beiden Tieren, stärker beim Immuntiere, geschwollen; bei 63 lassen sich mikroskopisch Bacillen nachweisen, bei 23 fehlen sie. Bei beiden Tieren ist das Fettmark auf Kosten des roten sehr reduziert. In alle Einzelproben erfolgt eine Einsaat von 80 Bacillen (pro Oese) aus Bouillonkultur.

			Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm	Immunserum	3!	3
2)	1 "	" + Immunleber	92	76
3)	1 "	" + Immunmilz	128	164
4)	1 "	" + Immunniere	104	220
5)	1 "	" + Immunknochenmark	76	9
6)	1 "	" + " + Immunleber	82	23
7)	1 "	" + " + Immunmilz	163	49
8)	1 "	" + " + Immunniere	111	31
9)	1 "	Normalserum	116	0
10)	1 "	" + Normalleber	104	136
11)	1 "	" + Normalmilz	3200	3216
12)	1 "	" + Normalniere	528	2080
13)	1 "	" + Normalmarknochenmark	278	85
14)	1 "	" + " + Normalleber	272	320
15)	1 "	" + " + Normalmilz	2960	992
16)	1 "	" + " + Normalniere	728	70

Die Tabelle zeigt deutlich, wie kräftig die bakterizide, fast überall in starker Entwicklungshemmung sich äußernde Wirkung im Organismus des normalen Tieres ausgeprägt ist. Sie entspricht qualitativ der des immunen Tieres vollständig und nähert sich ihr auch quantitativ, wobei allerdings zu bemerken ist, daß die Immunität des Kaninchens 23 nicht hoch getrieben war und sich dasselbe infolge einer sehr starken Sarkoptesinfektion in schlechtem Ernährungszustande befand. Immerhin läßt der starke Bacillengehalt der Milz des Kontrolltieres erkennen, daß wenigstens in diesem Organ der Sieg für die Bacillen bereits zur Zeit der Tötung des Tieres entschieden war.

Ob das Serum solcher Tiere überhaupt eine wesentliche Bedeutung hat, wurde nicht genauer untersucht. Jedenfalls trat genau die gleiche Wirkung auf, wenn das Serum des infizierten Tieres mit dem eines ganz normalen vertauscht wurde. Die folgende Tabelle sei aus dem Grunde angeführt, weil zufälligerweise eines der sehr seltenen Kaninchensera zur Verwendung kam, das gegen Milzbrand fast unwirksam war.

Tabelle II.

Organe des in Tabelle I erwähnten Kaninchens 63 mit Serum eines ganz normalen Kaninchens.

			Sofort	Nach 4 Stdn.
1)	1 ccm	Kaninchenserum	108	380
2)	1 "	" + Knochenmark 63	290	136
3)	1 "	" + " 63 + Leber 63	320	129

Die Zellen sind offenbar das Entscheidende, das Serum das weniger Wichtige.

Der Umstand, daß beim Huhne und beim Hunde (normalen oder immunisierten) nach einer Infektion bakterizide Serumwirkung eintreten kann, ist nicht geeignet, dem Serum eine größere Bedeutung beizulegen, seitdem Pettersson¹⁾ beim Hunde auch hier den Nachweis der ausschlaggebenden Wichtigkeit der Leukocyten in überzeugender Weise geführt hat. Wie sich überall in den bereits mitgeteilten Versuchen die

1) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. 1904.

Uebereinstimmung des natürlich immunen mit dem künstlich immunisierten Tiere gezeigt hat, so läßt sich auch beim Huhne Analoges wie bei den künstlich milzbrandfesten Hunden Petterssons nachweisen.

Tabelle III.

Defibriniertes Blut, Serum und Knochenmark eines 8 Stunden früher intravenös mit Milzbrandbacillen infizierten Huhnes.

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm defibriniertes Blut	752	0
2) 1 „ Serum	620	736
3) 1 „ „ + Knochenmark	618	0
4) 1 „ NaCl-Pept. + Knochenmark	784	192
5) 1 „ „ „	632	über 10 000

Die Ueberlegenheit des defibrinierten Blutes über das Serum tritt deutlich hervor. In vielen Fällen läßt sich aber das Gleiche schon beim ganz normalen Tiere feststellen.

Tabelle IV.

Einer großen Henne wird Blut entzogen, teils defibriniert, teils zur Serumgewinnung stehen gelassen (I); unmittelbar darauf erhält sie 1 ccm Milzbrandbouillon in die Flügelvene. 7 Stunden später wird das Tier, dessen Leber ziemlich zahlreiche, Milz und Knochenmark wenige Tuberkel enthielt, verblutet (II).

	Sofort	Nach 4 Stdn.
1) 1 ccm defibriniertes Blut I	77	0
2) 1 „ Serum I	53	728
3) Gewasch. Blutkörperch. aus 1 ccm Blut I in 1 ccm NaCl-Pept.	62	0
4) 1 ccm NaCl-Pept.	102	3216
5) 1 „ defibriniertes Blut II	92	0
6) 1 „ Serum, durch Zentrifugieren von def. Blut II erhalten	86	12
7) 1 „ „ „ Gerinnung erhalten	80	368
8) Gewaschene Blutkörperchen aus 1 ccm defibriniertem Blut II in 1 ccm NaCl-Pepton	54	0

Es ist also bereits im normalen, nicht infizierten Huhne eine bakterizide Wirkung des defibrinierten Blutes vorhanden, die dem Serum fehlt, die aber, wie die Versuche mit den isolierten Blutzellen beweisen, nur diesen zugeschrieben werden kann. Die seit Buchners¹⁾ Untersuchungen geltend gewordene Gleichstellung von defibriniertem Blute und Serum gilt also nicht für alle Fälle.

Was die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Milzbrand betrifft, so wurde anfangs die Pasteursche Methode der Impfung mit abgeschwächten Kulturen angewendet, über deren Wert nach zahlreichen Untersuchungen (Marchoux, Melnikow-Raswedenkow, Sobernheim u. a.) kein Zweifel besteht. Sie gelang auch in vielen Fällen, aber die Verluste dabei waren außerordentlich große, wohl aus dem gleichen Grunde, der Sobernheim²⁾ bei seinen viel umfassenderen Versuchen anfänglich Schwierigkeiten bereitete.

Diese Immunisierung wurde auch bald ganz verlassen zu Gunsten einer anderen, die auf der Anwendung keimfrei gemachten Milzbrandödems zur aktiven Immunisierung beruht. Nähere Einzelheiten über diese neue Methode werden mitgeteilt werden, sobald die im Gange befindlichen Versuche an größeren Tieren (namentlich Schafen) in größerem Umfang als bisher durchgeführt sind. Dabei soll auch auf die Lite-

1) Buchner und Sittmann, Arch. f. Hyg. Bd. X. p. 121.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV. p. 321.

ratur näher eingegangen werden. Vorläufig wird die Anwendung dieses neuen Verfahrens nach jeder Richtung hin vorbehalten. Kaninchen erlangen oft schon nach einmaliger, sicher nach wiederholter Einspritzung von 2—5 ccm der entsprechend behandelten Oedemmassen einen andauernden ausgiebigen Schutz gegen Impfung mit virulentem Milzbrand. Noch leichter scheint diese Art der Immunisierung bei Schafen zu gehen, während sie bei Mäusen und noch mehr bei dem empfindlichsten Tiere, dem Meerschweinchen, große Vorsicht erfordert.

Das Serum von so immunisierten Kaninchen und Schafen besitzt eine Reihe sehr interessanter Eigenschaften. Zunächst zeigt es einen ausgesprochenen Schutzwert, der so hoch geht, daß das Serum der bisher bestimmunisierten Kaninchen, schon in Bruchteilen eines Kubikcentimeters intravenös eingespritzt, normale Kaninchen vor der subkutanen Infektion mit rund 1000 Bacillen zu schützen vermag. Vom Serum eines mit den berücksichtigten Kaninchen zusammen noch in der Immunisierung begriffenen Schafes ist dazu noch mehr als 1 ccm erforderlich, doch steigt der Wert des Serums dieses Tieres noch an, so daß auch hier mit Grund hohe Wirkung erwartet werden kann. Mäuse vollkommen zu schützen, ist bisher nur in einem kleinen Bruchteile der Fälle gelungen; von Meerschweinchen blieb bisher keines der passiv immunisierten Tiere dauernd am Leben. Doch äußerte sich auch bei diesen Tierarten die Wirkung des Serums in einer Verlängerung der Krankheitsdauer, welche die der Kontrolltiere um das 5—8-fache übertraf. In den Organen solcher Mäuse und auch in denen von Kaninchen, die zu geringe Serumengen erhalten hatten, läßt sich oft ein sehr eigentümlicher Bacillenbefund erheben. Abgesehen davon, daß die Zahl der z. B. in der Milz sichtbaren Bacillen, namentlich bei Kaninchen, sehr gering ist und daß sie mehr oder minder regelmäßig Degenerationszeichen (schlechte Färbung, Auftreibungen, leere Hüllen) aufweisen, ist ihre Anordnung eine eigentümliche. Schon in Ausstrichpräparaten der Milz sieht man längere Strecken fast bacillenfrei, während an einzelnen Stellen Häufchen davon, meist als verschlungene kurze bis mittellange Fäden, beisammen liegen. Bei Meerschweinchen wurde Aehnliches bisher nicht gesehen.

Der mit dem Immunserum erzielte Impfschutz ist nur von sehr kurzer Dauer und übersteigt für Kaninchen keinesfalls eine Woche. Es fehlt nicht an Zeichen dafür, daß hierauf die nicht vollständig günstigen Erfolge bei Meerschweinchen und Mäusen zurückzuführen sind, indem der Impfschutz früher schwindet, als die injizierten Bacillen im Organismus dieser Tiere abgetötet sind. Es würde sich gewissermaßen um eine verspätete Infektion handeln, was mit dem Charakter des Schutzserums, der kein bakterizider ist, zusammenhängt. — Kaninchen, welche nach Anwendung von Schutzserum in solcher Dosis, daß die Infektion keinerlei Erscheinungen, weder allgemeine noch lokale, macht, gesund blieben, sind vor einer neuen Erkrankung nicht geschützt und sterben schon eine Woche nach der ersten Behandlung neuerlich infiziert, ungefähr zur gleichen Zeit wie normale. Hingegen kann dann, wenn mindestens lokale Oedeme aufgetreten sind, dauernde Immunität die Folge sein. Man wird kaum fehlgehen, wenn man diese dann als aktive, infolge der Resorption des gebildeten Oedems entstandene ansieht. Derartige Oedeme unterscheiden sich von denen bei normalen Tieren meist so gut, daß man schon bei geringer Uebung mit ziemlicher Sicherheit sagen kann, ob die Tiere überleben werden oder nicht. Die

bei normalen Tieren sind bekanntlich weich und vor allem diffus, während die bei Schutzgeimpften neben einer gewissen Härte eine mehr oder minder deutliche Abgrenzung zeigen. Sie verschwinden schnell, meist indem sie in der Mitte eiterig werden. Davon können kleine, mit dickem, sterilem Eiter erfüllte Abscesse zurückbleiben, die langsam resorbiert werden.

Von weiteren Eigentümlichkeiten sei eine sehr starke präzipitierende Wirkung des Serums auf Oedem hervorgehoben. Beim Schafe, das mit Oedem vom Kaninchen behandelt ist, hätte diese Wirkung nichts Auffälliges. Sie tritt aber auch im Serum von Kaninchen auf, die nur mit Kaninchenödem behandelt wurden. Da die Bildung von Isopräzipitinen bisher nicht bekannt ist und ferner normales Kaninchenserum sowie das typhusimmuner Tiere Oedemflüssigkeit klar läßt, muß man annehmen, daß ein vom Milzbrandbacillus bei seinem Wachstum im Tierkörper gebildeter Stoff die Fällungserscheinung veranlaßt. Damit stimmt gut überein, daß das Serum von ausschließlich mit Kaninchenödem behandelten Kaninchen auch im Peritonealexsudate milzbrandiger Meerschweinchen starke Fällungen erzeugt.

Ein engerer Zusammenhang zwischen fällender und schützender Kraft scheint nach den bisherigen Versuchen nicht zu bestehen. Im übrigen zeichnet sich diese Präzipitation durch ihr schnelles Eintreten schon bei gewöhnlicher Temperatur aus. Bei Anwendung halbwegs großen Serummengen (1 : 1—1 : 5) fällt die erste, später erheblich stärker werdende Trübung fast mit der Mischung der beiden Flüssigkeiten zeitlich zusammen.

Besondere agglutinierende Eigenschaften zeigte das Immunerum nicht; die Art des Milzbrandwachstums, das leichte Auftreten von Haufen in sehr verschiedenen normalen Sera und anderen Flüssigkeiten (Malvoz) erschweren übrigens solche Untersuchungen, die bei der offenbar sehr geringen Bedeutung des Agglutinationsphänomens für die Immunität leicht unterbleiben konnten.

Von weit größerer Wichtigkeit war die Frage nach der Wirkungsweise des Schutzserums. Der ganze Krankheitsverlauf läßt von vornherein annehmen, daß ein gegen Milzbrand wirksames Schutzserum bakterizid sein müsse; tatsächlich wird dies z. B. von dem Sobernheim'schen Serum seinerzeit wohl allgemein angenommen¹⁾. — Gleichwohl hat Pettersson feststellen können, daß das Serum seiner hochimmunen Hunde die Eigenschaften eines solchen Serums nicht besitze. Die wichtigsten sind bekanntlich die im frischen Zustande deutlich ausgesprochene eigene Bakterizidie und der erhebliche Gehalt an spezifischen Immunkörpern. Diese Eigenschaften müßten sich gerade beim Milzbrande, wo schon im normalen Serum die Verhältnisse leicht klarzulegen sind, ohne Mühe nachweisen lassen. Es fehlen aber beide, wie sich gleichgut am Schafe und Kaninchen zeigen läßt.

Das Schaf verfügt in seinem Serum über keine bakterizide Wirkung und es scheinen Tiere nicht selten zu sein, denen normalerweise die Immunkörper vollständig abgehen. Dies war der Fall bei dem inzwischen hochimmunisierten Schafe III, dessen Serum zu Beginn der Behandlung weder bakterizid war noch sich durch die zulässigen Mengen Kaninchenserums ergänzen ließ. Nach mehrmonatlicher Immunisierung

1) Es sei nochmals erwähnt, daß die bezügliche Literatur erst in einer späteren Untersuchung besprochen werden soll.

besaß das Serum des Tieres einen ansehnlichen (seither weiter gestiegenen) Schutzwert, wobei für die folgende Bestimmung desselben an Kaninchen von 12—1500 g zu bemerken ist, daß das Serum in erhitztem Zustande verwendet wurde. Hierzu wurde dasselbe in ein Wasserbad von 55° gestellt und die Temperatur im Verlaufe von 1/2 Stunde auf 48° erniedrigt. Solches Serum ruft an sich bei intravenöser Einspritzung keinerlei Vergiftungserscheinungen mehr hervor.

Kaninchen 133. 5 ccm Schafserum intravenös, 1/2 Stunde später 2424 Bacillen subkutan. Lebt, ohne irgendwelche Erscheinungen gezeigt zu haben.

Kaninchen 134. 2,5 ccm Schafserum intravenös, sonst wie Kaninchen 133. Lebt, ohne irgend welche Krankheit gezeigt zu haben.

Kaninchen 135. 1 ccm Schafserum intravenös, sonst wie Kaninchen 133. Zeigt am nächsten Tage an der Impfstelle ein geringes Oedem, das am nächsten Tage größer geworden ist, aber nur mäßige Abgrenzung zeigt. Am nächsten Tage war eine sehr wesentliche Verkleinerung festzustellen, so daß das Tier bereits als gerettet betrachtet wurde; es starb aber am 4. Tage. An der Impfstelle wenig Eiter, kein Oedem. Milz groß. Mikroskopisch waren nirgends Bacillen zu finden, doch lieferte Kultur auf schiebem Agar spärliche Kolonien.

Kaninchen 136. 0,25 ccm Schafserum intravenös, sonst wie Kaninchen 133. Am nächsten Tage geringes, am zweitnächsten starkes, wenig abgegrenztes Oedem. Tod nach 72 Stunden. Hartes, wenig saftreiches, in der Mitte eiteriges Oedem. Milz groß, mit ziemlich spärlichen, aber typischen Bacillen.

Kaninchen 107 (Kontrolltier). 5 ccm Normalschafserum intravenös, sonst wie Kaninchen 133. Am nächsten Tage mächtiges, diffuses Oedem. Tod nach 36 bis 42 Stunden. Typischer Befund.

Nach diesem Ergebnisse würde eine genaue Wertbestimmung wohl eine Menge von nicht viel mehr als 1 ccm Serum als für Kaninchen ausreichend ergeben haben und man müßte daher einen ansehnlichen Immunkörpergehalt erwarten. Stattdessen ergab sich, daß gerade so wie vor der Immunisierung nichts davon vorhanden war.

Tabelle V.

	Einsaat	Nach 4 Stdn.	
1) 1 ccm Schafserum		2160	
2) 1 " " mit 1/10 tot. Agarkult. behand.		über 10 000	
3) 1 " " " 1/10 " " " + 0,05 ccm akt. K.-S.	Mittel 635 im	5728	
4) 1 " " " 1/2 " " " " + 0,05 ccm akt. K.-S.		} über 10 000	
5) 1 " " " 1/2 " " " " + 0,05 ccm akt. K.-S.			
6) 1 " " " 1 " " " " " + 0,05 ccm akt. K.-S.			
7) 1 " " " 1 " " " " " + 0,05 ccm akt. K.-S.			
8) 1 " " " + 0,05 ccm aktives Kaninchenserum			4000

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Das Immunserum der Kuhpockenlymphe.

[Eine orientierende Experimentalstudie.]

Von Medizinalrat Dr. M. Freyer,

Dirigent der Kgl. Anstalt zur Gewinnung tierischen Impfstoffes zu Stettin.

Auf der Versammlung der deutschen Impfinstitutsvorsteher zu Karlsbad am 21. September 1902 hatte L. Pfeiffer (Weimar) in einem Vortrage über „die modernen Immunitätslehren und die Vaccination“¹⁾

1) Später veröffentlicht in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten von Koch und Flügge. Bd. XLIII. 1903. p. 426—461.

unter Hinweis auf die neueren Erfahrungen und Feststellungen über Immunsera den dringenden Wunsch ausgesprochen, daß in den Impfinstituten bezüglich der Vaccination in analoger Weise wissenschaftlich weitergeforscht würde.

Dieser Anregung folgend, begann ich alsbald, meine experimentellen Arbeiten in dem mir unterstellten Institut auf die Serumforschung zu übertragen und ihre Nutzanwendung auf die Vaccinelymphe zu lenken.

Daß in dem Blute vaccinierter Tiere sich Schutzstoffe der Vaccine bilden, war a priori anzunehmen und ist bereits vor Jahren durch Reymaud, L. Pfeiffer und viele andere¹⁾ auch experimentell erhärtet worden, indem nach Injektion von Blut bzw. Blutserum des vaccinierten Kalbes bei einem anderen Kalbe die nun folgende Vaccination meist fehlschlug. In neuerer Zeit sind diese Versuche von Beumer und Peiper, von Boice, von Hlava und Honl und in besonders umfangreicher Weise von Béclère, Ménard und Chambon ausgeführt worden, von den letzteren auch bei blatternkranken Menschen zu Heilungszwecken. Bald wurden kleinere, bald große und sehr große Mengen Serum verwendet, bald einem Serum aus der höchsten Blüte der Pockenpusteln, also dem 4. Tage nach der Impfung, bald einem solchen am Ende der Abtrocknungsperiode der Pusteln, also vom 14. bis 20. Tage, als dem wirksamsten der Vorzug gegeben. Die Resultate waren indessen hier wie dort schwankende.

Zur Steigerung der Immunwirkung des Serums, um mit geringen Mengen desselben schon hohe Wirkungen zu erzielen, hat dann Hlava ein mit Blatternborkenemulsion geimpftes Kalb nach Ablauf des allgemeinen Pustelausschlags noch vacciniert und ihm gleichzeitig die Blatternborkenemulsion auch intravenös beigebracht. Hlava glaubt hierdurch tatsächlich ein schutzkräftigeres Serum erzielt zu haben, wie seine Versuche an Kälbern und Kindern ergaben.

Den Beweis, daß die immunisierende Wirkung des vaccinalen Serums nicht etwa auf der Anwesenheit von Mikroben, sondern auf seinem Gehalt an einem spezifischen Antitoxin beruhe, erbrachte Sternberg dadurch, daß nach Verimpfung einer Mischung aus gleichen Mengen vaccinalen Serums und guter Impflymphe bei einem Kalbe keine Impfpusteln entstanden, während mit einer Mischung aus gewöhnlichem Rinderblutserum und Impflymphe gute Pocken erzielt wurden.

Die gleiche Beobachtung machten Béclère, Chambon, Ménard und Jussset, indem sie von dem Serum des geimpften Rindes, Pferdes, Menschen und des Blatternrekonvaleszenten sagen, daß es sich dem Vaccinevirus im Reagenzglas gegenüber wie ein Antiseptikum verhalte: es schädige die Wirksamkeit der Vaccine, als ob man Karbol oder Sublimat hinzusetzte. Indessen halten sie es bezüglich der Art der Wirkung in vivo für unbekannt, ob die immunisierende Substanz selbständig das Kontagium zu töten vermag oder nur stimulierend auf die Zellen des Organismus wirkt, so daß diese widerstandsfähiger werden.

Bei meinen Experimenten nun ging ich den neueren Serumforschungen analog vor, indem ich nicht ausschließlich das Serum des vaccinierten Kalbes benutzte, sondern auch andere Tiere, besonders Kaninchen, mit Lymphe wiederholt injizierte und das hierdurch gewonnene Immun-

1) Siehe die bezügliche Literatur in den Impfbereichten von Oberimpfarzt Dr. Leonhard Voigt zu Hamburg im Archiv für Kinderheilkunde. Bd. XX. 1895. Bd. XXIII. 1896. Bd. XXIX. 1899. Bd. XXXII. 1900.

serum teils in vitro bezüglich seiner Einwirkung auf Lympheverdünnungen beobachtete, teils in vivo in Mischungen mit Lymphe verimpfte und den Erfolg feststellte.

Die Injektionen bei den Kaninchen geschahen sowohl mit Kälber-, als auch mit Menschenlymphe. Die Kälberlymphe wurde in der sonst zu Impfungen abgegebenen Form der Glycerin-Wasseraufschwemmung in Mengen von 1—3 ccm teils intraperitoneal, teils subkutan, teils in weiterer Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung auch intravenös injiziert, die Menschenlymphe teils mit Kochsalz verdünnt intravenös, teils rein intraperitoneal, in Mengen von 2—5 Kapillarröhrchen, was einer jedesmaligen Gesamtmenge von etwa 0,2—0,5 ccm Lymphe entsprach. Die Injektionen wurden in Zwischenzeiten von 3—5 Tagen wiederholt, die Blutentziehung nach 4—10-maliger Injektion, jedesmal 3—4 Tage nach der letzten Injektion vorgenommen. Es sei hier gleich bemerkt, daß diese Experimente durchaus nicht glatt verliefen, sondern von den verschiedenartigsten Unfällen begleitet waren, indem einzelne Tiere bald plötzlich nach der Injektion infolge eines unglücklichen Zufalls, z. B. einer Embolie nach venöser Injektion, bald ein oder mehrere Tage nachher unter anderen krankhaften Erscheinungen verendeten.

Zu Kontrollversuchen bereitete ich mir ferner Immusera sowohl aus Kälber-, als auch aus Menschenblut, daneben auch aus Kälberblut, das vom vaccinierten Kalbe bereits herstammte, und endlich aus dem Hautepithel der Kälberhaut, das in physiologischer Kochsalzlösung oder in Glycerinwasser aufgeschwemmt und teils intraperitoneal, teils subkutan den Kaninchen injiziert worden war.

Die Untersuchungen in vitro wurden in Glastuben von 4 cm Länge und 8 mm Weite vorgenommen, die jedesmalige Menge der zu prüfenden Stammflüssigkeit auf 0,9 ccm, des hinzuzufügenden Immuserums auf 0,1 ccm bemesen.

Zu den Verdünnungen der Lymphen wurde physiologische Kochsalzlösung verwendet, da destilliertes Wasser bei wiederholten Vergleichen keinen Unterschied ergab. Die Verdünnung wurde meist in Höhe von 1 : 25, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 500 gewählt, seltener bis zu mehreren Tausend. Größere Schwierigkeiten bei der Beobachtung der Resultate bildete die Kälberlympheverdünnung, die bei 1 : 25, 1 : 50 und auch noch bei den weiteren Verdünnungen eine mehr trübe oder opalisierende Flüssigkeit abgibt, in der die etwaige Präzipitation nicht sofort deutlich und mit Bestimmtheit hervorzutreten pflegt, sondern erst später aus der Menge des Niederschlags und seiner mehr flockigen Form im Vergleich zu den Kontrollproben zu folgern ist. Bei der klaren Stammflüssigkeit der Menschenlymphe dagegen ließ sich das Resultat meist alsbald nach dem Zusatz des Immuserums, bestimmt aber nach Stehenlassen für einige Stunden bei 37° C feststellen.

Neben der makroskopischen wurde zur Kontrolle auch von der mikroskopischen Beobachtung im hängenden Tropfen Gebrauch gemacht, hier stets unter Vergleichung mit hängenden Tropfen, denen andersartige Sera zugesetzt waren¹⁾.

Bei den nun folgenden Versuchen wurde in der Weise vorgegangen, daß zunächst die Kälberlymphe der Prüfung unterzogen und die

1) Die positive Reaktion bei der Kälberlympheverdünnung war im hängenden Tropfen daran zu erkennen, daß sich die sonst mehr gleichmäßig verteilten Partikelchen der Lymphemasse nach der Mitte des Tropfens zu in landkarten- oder guirlandenartiger Form zusammengezogen, zwischen sich freie Felder lassend.

Einwirkung des mit dieser gewonnenen Immuserums auf dieselbe beobachtet wurde. Da in dem Blutserum des vaccinierten Kalbes nach den obenerwähnten Beobachtungen bereits Immunkörper als vorhanden anzunehmen sind, so lag es nahe, zunächst dieses Serum ebenfalls noch in seiner Einwirkung auf Kälberlymphe zu prüfen. Das Resultat war ein schwankendes; bald schien es, als ob ein augenscheinlich größerer Niederschlag sich bildete als in dem Kontrollröhrchen, bald schien dies nicht der Fall zu sein. Die Schwierigkeit, hier zu einem bestimmten Resultat zu gelangen, lag einmal in dem erwähnten Umstande, daß wir es in der Stammflüssigkeit mit einem trüben Fluidum zu tun haben, zweitens darin, daß in dem fraglichen Immuserum nach den anderweitigen Erfahrungen nur wenig Immunkörper enthalten sind. Die Untersuchung im hängenden Tropfen gab mehr positiven Ausschlag. Diese Probe muß daher noch unentschieden bleiben, bis es gelingen wird, die Methode der Untersuchung weiter zu vervollständigen¹⁾. Ein gleicher Versuch, von dem L. Pfeiffer in seinem oben zitierten Bericht Erwähnung tut, fiel bei ihm negativ aus.

Dagegen ergab die Prüfung des mit Kälberlymphe gewonnenen Immuserums auf die Kälberlymphe ein bestimmt positives Resultat, selbst noch bei Verdünnung der Lymphe von 1 : 500. Dasselbe positive Resultat ergab die Untersuchung im hängenden Tropfen. Noch stärker wurde die Präzipitation, wenn das Verhältnis des Immuserums zur Stammflüssigkeit vermehrt wurde, z. B. wenn es 0,5 : 0,5 statt 0,1 : 0,9 bildete. Die zur Kontrolle aufgestellte Stammflüssigkeit ohne Immuserumzusatz bildete in gleicher Beobachtungszeit nur ein spärliches Sediment.

Weiter ergab sich nun, daß auch dasjenige Immuserum, welches mit dem Blute des vaccinierten Kalbes gewonnen wurde, indem nämlich dieses wiederholt dem Kaninchen injiziert worden war, auf die Kälberlympheverdünnung ebenfalls stark präzipitierend einwirkte und zwar sowohl bei dem üblichen Mischungsverhältnis von 0,1 : 0,9, als auch besonders stark bei einem Verhältnis von 0,1 : 0,5 oder 0,1 : 0,1.

Auch ein Kontrollversuch mit einem aus Kälberblutserum gewonnenen sehr hochwertigen Immuserum auf die Kälberlympheverdünnung zeigte sowohl makroskopisch wie auch im hängenden Tropfen eine zwar schwache, doch deutlich positive Einwirkung.

Zur weiteren Orientierung über die Wirkung des mit Kälberlymphe gewonnenen Immuserums wurde dieses noch bezüglich seiner etwaigen Einwirkung auf einfaches Kälberblutserum und auf das Blutserum des vaccinierten Kalbes geprüft, in beiden Fällen mit ebenfalls positivem Ergebnis.

Endlich erwies sich das Blutserum des vaccinierten Kalbes dem einfachen Kälberblutserum gegenüber nicht als ein Immuserum, während dagegen das mit dem Blutserum des vaccinierten Kalbes gewonnene Immuserum sich sowohl dem einfachen Kälberblutserum, als auch dem Blutserum des vaccinierten Kalbes gegenüber als ein Immuserum verhielt. In den beiden letzteren Fällen dürfte es sich eben nur um eine spezifische Blutserum-Immunität handeln, bei der die Herstammung

1) Neuerdings habe ich aus der klaren, direkt der Kälberpocke mit Kapillarröhrchen entnommenen Lymphe die Verdünnung hergestellt; die Versuche mit dieser ergaben stets ein deutlich positives Resultat.

des Immunserums von einem vaccinierten Kalbe keine weitere Rolle spielt bezw. zu spielen braucht.

Zum Schluß sei noch ein Versuch erwähnt, bei welchem das mit Blutserum des vaccinierten Kalbes gewonnene Immunserum auf das mit Kälberlymphe erhaltene Immunserum, also **I m m u n s e r u m** auf **I m m u n s e r u m** zur Einwirkung gebracht wurde, in dem üblichen Verhältnis von 0,1 des ersteren auf 0,9 des letzteren. Es ergab sich ein stark positiver Ausfall.

Die zweite Reihe der Versuche betraf die Prüfung der Einwirkung des mit Menschenlymphe erhaltenen Immunserums auf Menschenlympheverdünnung. Hier war die Wirkung stets leicht und eindeutig erkennbar, da man es mit klarer Stammflüssigkeit zu tun hat, wie bei den Blutserumverdünnungen. Das Resultat war folgendes.

Das Immunserum der Menschenlymphe wirkte auf die Menschenlympheverdünnung überaus stark präzipitierend ein. Die Wirkung war zuweilen eine so hochwertige, daß der Titer bis 10,000 und vielleicht noch mehr betrug. Die Wirkung war meist sofort sichtbar, jedenfalls aber nach wenigen Minuten; einer Erwärmung im Brutschrank bedurfte es nicht.

Zur Kontrolle wurde das Menschenlymphe-Immunserum auf einfaches Menschenblutserum einwirken gelassen: auch hier ergab sich dieselbe stark präzipitierende Einwirkung, wie bei der von Menschenlymphe-Immunserum auf Menschenlympheverdünnung.

Das gleiche Resultat hatte aber auch die Einwirkung von Menschenblut-Immunserum auf die Menschenlympheverdünnung; auch hier gab es dieselben starken Präzipitationen, wie bei den vorigen Einwirkungen.

Es ist klar, daß es sich bei allen diesen Einwirkungen in erster Linie um die Wirkung des Immunkörpers des Menschenblutserums handeln mußte, da doch die Menschenlymphe, von ihrem Gehalt an spezifischem Pockenvirus und an Lympheflüssigkeit abgesehen, auch Blutserum zum mindesten beigemischt enthält. Denn schon bei ihrer Gewinnung ist es nicht zu vermeiden, daß Blut sich ihr beimischt. Es war demnach nach dem positiven Ausfall der erwähnten Kontrollproben kein Urteil darüber zu gewinnen, inwieweit bei der Probe mit dem Menschenlymphe-Immunserum auf Menschenlympheverdünnung die Einwirkung eine spezifisch pockenvirulente war, d. h. ob ein etwaiger Immunkörper des Pockenvirus hier mit zur Einwirkung gelangte. Die Entscheidung hierüber mußte daher dem Experiment *in vivo* vorbehalten bleiben¹⁾.

Eine dritte Versuchsreihe bezog sich auf die wechselseitige Einwirkung von Kälberlymphe-Immunserum auf Menschenlympheverdünnung und umgekehrt von Menschenlymphe-Immunserum auf Kälberlympheverdünnung. In beiden Fällen war die Wirkung eine positive, in dem ersteren Falle deutlicher ausgeprägt, weil die klare Menschenlympheverdünnung die Präzipitationen deutlicher erkennen ließ, als die trübere Kälberlympheverdünnung.

Von Kontrollversuchen sei nur erwähnt, daß Immunserum von

1) Da eine so geringe Menge von Menschenlymphe, wie die oben angegebene, bereits im stande ist, ein sehr hochwertiges Immunserum auch für Menschenblutserum zu erzeugen, so bedarf es zur Herstellung eines Immunserums für Menschenblutserum wohl gar nicht so großer Injektionsmengen von letzterem, wie es sonst üblich ist, nämlich von Mengen bis zu 10 cem und mehr, sondern es dürften hierzu ganz erheblich kleinere Mengen ausreichen.

Kälberblut und solches vom Blute des vaccinierten Kalbes bei der Einwirkung auf Menschenlympheverdünnung sich ebenso negativ verhielt, wie umgekehrt Immunserum von Menschenblut auf Kälberlympheverdünnung.

Eine vierte Versuchsreihe endlich erstreckte sich auf die Prüfung des Verhaltens der Hautepithelien zu der Kälberlymphe.

L. Pfeiffer hatte in seinem Bericht auf gewisse neue Gesichtspunkte hingewiesen, welche die Epithelimmunisierung auch für das Studium der Variolaimmunität abzugeben die Möglichkeit bieten könnte. Die Epithelzelleninfektion spielt bei der Variolainfektion und Vaccination eine wesentliche Rolle, und nachdem v. Dungern ein Immunserum gegen Epithel hergestellt hat, lag es nahe, die Beziehungen zu prüfen, welche etwa das Immunserum des geimpften Kalbes auf die Epithelien und umgekehrt ein Epithelimmunserum auf die Vaccine bezw. Vaccination hätte.

Das Serum des geimpften Kalbes prüfte Pfeiffer selber in seiner Einwirkung auf die Flimmerepithelien der Trachea des Rindes und des frisch geschlachteten Kalbes, ohne einen toxischen Einfluß nachweisen zu können. Dasselbe negative Resultat erhielt er bei der Prüfung der Vaccinelympheeinwirkung auf die Flimmerepithelien.

Bei meinen Versuchen nun stellte ich mir, da bei der Impfung vornehmlich die äußere Haut, und nicht die Schleimhaut, benutzt wird, ein Immunserum aus Hautepithelien her, indem ich von der Cutis des lebenden Kalbes und weiterhin, zur Vermeidung des dabei miterhaltenen Blutes, von der Cutis des eben geschlachteten Kalbes in gleicher Weise, wie bei der Pockenabnahme, das Epithel abkratzte und mit der für die Bereitung der Pockenlympheemulsion hier üblichen 5-fachen Menge Glycerinwasser oder physiologischer Kochsalzlösung zu einer Emulsion verrieb. Diese Epithelverreibung spritzte ich Kaninchen intraperitoneal ein, und zwar in Mengen, die ungefähr den Kälberlymphemengen gleichkamen, welche ich Kaninchen injizierte, um ein Kälberlymphe-Immunserum zu erhalten. Es kamen danach auf die erste Injektion etwa 0,5 Rohmasse des Epithels, die von Injektion zu Injektion um 0,25–0,5 gesteigert wurde.

Nach 3–5 in 4–5-tägigen Zwischenräumen erfolgten Injektionen wurde die erste Blutprobe entnommen und dessen Serum auf seine Immunwirkung geprüft. Dabei ergab sich:

Das nach 3-maliger intraperitonealer Injektion gewonnene Hautepithelimmunserum zeigte, in gleicher Weise wie die anderen Immunsera auf Kälberlympheverdünnung geprüft, keinerlei Einwirkung auf diese, weder makroskopisch in der Glasröhre, noch mikroskopisch im hängenden Tropfen. Die Kälberlympheverdünnung hatte ich hierbei 1 : 25 genommen und noch besonders stark ausgeschleudert, um sie möglichst klar zu erhalten. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig Immunsera von Kälberlymphe, Menschenlymphe, Kälberblut- und Menschenblutserum, durch gleiche Anzahl von Injektionen in gleicher Zeit gewonnen, auf dieselbe Kälberlympheverdünnung zur Einwirkung gebracht, wobei sich mit voller Deutlichkeit, besonders im hängenden Tropfen, der negative Ausfall der Hautepithelimmunwirkung im Gegegensatze zu der positiven Einwirkung z. B. des Kälberlympheimmunserums ergab.

Eine Einwirkung des Hautepithel-Immunserums auf Menschenlympheverdünnung, auf Blutserum des geimpften, sowie nicht geimpften Kalbes, auf Menschenblutserum war ebenfalls negativ.

Aber auch auf die 25-fach verdünnte Hautepithelverreibung selber, sofern diese von dem getöteten Kalbe stammte, wirkte das Hautepithel-Immunserum weder makro- noch mikroskopisch erkennbar ein; besonders im hängenden Tropfen bildeten sich weder Präzipitationen, noch ähnliche Zusammenballungen der Epithelmassen, wie bei der Einwirkung des Kälberlymphe-Immunserums auf die Kälberlympheverdünnung.

Die gleichen Versuche mit dem nach 5-maliger Injektion gewonnenen Immunserum fielen ebenfalls negativ aus. Dagegen zeigte sich bei der Hautepithelverreibung, die frisch vom lebenden Kalbe herstammte, sowohl makro- wie mikroskopisch eine Präzipitationswirkung des Hautepithel-Immunserums auf diese Verreibung. Dieser Effekt ist augenscheinlich dadurch zu erklären, daß hier eine Immunwirkung auf das den Epithelien beigemischte Kälberblut stattfand. Denn auch ein Immunserum der Kälberlymphe, sowie des einfachen Kälberblutes brachte in derselben Hautepithelverreibung eine gleiche Präzipitationswirkung hervor.

Nach diesen Versuchen *in vitro* ging ich zu solchen *in vivo* über, indem ich Mischungen von Menschen- bzw. Kälberlymphe teils mit den zugehörigen homologen, teils mit den heterologen Immunsera auf Kälbern verimpfte. Die Mischung war bei dem ersten Versuch unmittelbar vor der Verimpfung, bei den späteren Versuchen 15—20 Stunden vor derselben hergestellt worden, das Verhältnis zwischen Lymphe und Immunserum war beim ersten Versuch 1:1, bei den späteren Versuchen ein Teil Lymphe zu 1, 2, 3, 9, 10 Teilen Immunserum.

Bei dem ersten Kalbe ergab die Verimpfung der Mischung von Menschenlymphe mit Menschenlymphe-Immunserum keine Pustelbildung, die Impflymphe war somit durch die Mischung vollkommen unwirksam geworden. Eine gleichzeitig auf demselben Kalbe verimpfte Mischung von Kälberlymphe mit Kälberlymphe-Immunserum zeigte nach 3 Tagen sehr trockene und in der Entwicklung zurückgebliebene Pockenstriche, die indessen in den folgenden 3 Tagen sich noch erholten und zu guten Pockenpusteln auswuchsen. Hier war somit nur eine anfängliche Verzögerung und Hemmung der Pockenentwicklung eingetreten.

Zur Kontrolle waren auf demselben Kalbe noch gleichzeitige Mischung von Menschenlymphe mit Glycerinwasser, Menschenlymphe mit Menschenblut-Immunserum, Kälberlymphe mit Glycerinwasser, Kälberlymphe mit Kälberblut-Immunserum verimpft worden. In allen diesen 4 Fällen war die Pockenentwicklung ungestört vor sich gegangen.

Bei dem nächsten Kalbe wurden ausschließlich Mischungen von Kälberlymphe mit homologen Sera verwendet, und zwar sämtlich in den Mischungsverhältnissen von 1 Teil Lymphe auf 2 bzw. 10 Teile Immunserum. Hierbei ergab sich folgendes:

Kälberlymphe mit Kälberlymphe-Immunserum gemischt, ließ in sämtlichen Mischungsverhältnissen es zu keiner Pockenbildung mehr kommen.

Kälberlymphe mit dem mit Serum des vaccinierten Kalbes gewonnenen Immunserum gemischt, ließ nur einen geringen Unterschied in der sonstigen Breite der Pocken erkennen, sonst aber verlief die Pockenbildung in normaler Weise.

Kälberlymphe mit dem bloßen Serum des vaccinierten Kalbes, mit Kälberblut-Immunserum und mit einfachem

Kälberblutserum gemischt, ergab ungestörte Pockenentwicklung.

Endlich wurden auf einem Kalbe Mischungen sowohl von Menschenlymphe als auch von Kälberlymphe mit homologen und heterologen Immunsera von 1 : 1, 1 : 3 und 1 : 9 verimpft. Das Resultat war folgendes:

Menschenlymphe mit Menschenlymphe-Immunserum ergab, wie früher, vollständigen Pockenausfall,

Menschenlymphe mit Kälberlymphe-Immunserum desgleichen,

Menschenlymphe mit Menschenblut-Immunserum ungestörten Pockenverlauf,

Kälberlymphe mit Kälberlymphe-Immunserum nur einzelne Pockenbildungen,

Kälberlymphe mit Menschenlymphe-Immunserum desgleichen,

Kälberlymphe mit Kälberblut-Immunserum ungestörten Pockenverlauf.

Eine weitere Versuchsreihe in vivo betraf die Nachprüfung der von den französischen Forschern behaupteten Tatsache, daß das Serum des vaccinierten Kalbes erst vom Ende der Borkenabtrocknungsperiode ab Immunkörper besitze. Kälberlymphe, gemischt mit dem Serum des vaccinierten Kalbes vom Tage der Abimpfung, welche hier in der Regel 4 Tage nach der Impfung geschieht, hatte ich bereits, wie oben bemerkt, verimpft, ohne daß die Pockenentwicklung sich beeinträchtigt erwies. Ich entnahm nun einem vaccinierten Kalbe 7 Tage nach der Impfung Blut und mischte dessen Serum mit Kälberlymphe in der Weise, daß ich je einem Teile Lymphe $\frac{1}{2}$, 1, 2, 4, 6, und 10 Teile dieses Serums hinzufügte. Die Verimpfung der Mischungen mit $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Teilen Serumzusatz ergab, vielleicht nur mit etwas zu Anfang verlangsamtem Verlauf, vollkommen gute Pocken, dagegen die mit 4, 6 und 10 Teilen Serumzusatz stärker verlangsamten Verlauf und schließlich Pockenbildungen mit starker Eintrocknung in der Mitte.

Demselben Kalbe, dem 7 Tage nach der Impfung das Blutserum entnommen worden war, wurde 14 Tage nach der Impfung wiederum Blut entnommen, das Serum in gleicher Weise wie zuvor mit Kälberlymphe vermischt und verimpft. Die Mischung mit dem Zusatz von $\frac{1}{2}$ Teil Serum ließ die Pockenentwicklung nach 3 Tagen noch als eine schwache, nach weiteren 2 Tagen nur als eine im ganzen zurückgebliebene anerkennen. Mit den Mischungen von 1, 2 und 4 Teilen Serumzusatz wurden nach 3 Tagen noch sehr gute Pocken erzielt, die indessen nach weiteren 2 Tagen nur wenig weiter entwickelt und mehr trocken geworden waren. Die Mischungen mit 6 und 10 Teilen Serumzusatz ergaben nach 3 Tagen noch deutliche Pockenbildungen, die 2 Tage später indessen zu Borken vertrocknet waren.

Es hatte somit das dem vaccinierten Kalbe 7 bzw. 14 Tage nach der Impfung entnommene Blutserum wohl abschwächend auf die zur Impfung benutzte Lymphe, doch nicht stark abtötend gewirkt, wie es von den genannten französischen Forschern angegeben wird.

Bei den erstgenannten Versuchen in vivo hatte sich demnach gezeigt, daß mit wiederholten Injektionen von Menschen- und Kinderlymphe beim Kaninchen sich ein höherwertiges Immunserum erlangen läßt, als durch die einmalige Vaccination, indem dort eine Mischung von gleichen Teilen Lymphe und Immunserum einen absoluten Pockenausfall ergeben hatte. In der Erwägung nun, daß die Immunwirkung des Serums sich möglicherweise noch höher steigern ließe, wenn an Stelle des

Kaninchens ein für die Vaccination ganz besonders empfängliches größeres Tier, das Kalb, zu den wiederholten Lymphinjektionen benutzt würde, machte ich einem Kalbe in 4-tägigen Zwischenräumen je eine intraperitoneale Injektion von 5, dann 6, dann 10 und dann wieder 10 ccm Kälberlymphe, was von dem Kalbe ohne jede Störung vertragen wurde. 6 Tage nach der letzten Injektion wurde dem Kalbe Blut aus der Jugularvene entnommen, das Serum desselben mit Kälberlymphe in den oben angegebenen Mischungsverhältnissen gemischt und verimpft. Hier nun ließ bereits die Mischung mit $\frac{1}{2}$ Teil Serumzusatz nach 2 Tagen keine Reaktion erkennen und zeitigte nach weiteren 3 Tagen nur erhabene, trockene Borken, doch keine irgend charakteristischen Pockenbildungen. Auch die übrigen Mischungen ergaben nur trockene Borken den Impfstriehen entlang, ähnlich stark degenerierten Pockenbildungen.

Nachdem dem Injektionskalbe nach der Blutentziehung noch 2 weitere Lymphinjektionen von 12 bzw. 15 ccm Kälberlymphe gemacht worden waren, wurde das Tier geschlachtet und mit dem Blutserum in gleichen Lymphemischungsverhältnissen der vorgenannte Versuch bei einem anderen Kalbe wiederholt. Auch bei diesem ergab schon die Mischung mit $\frac{1}{2}$ Teil Serumzusatz keine Spur von Pockenbildung mehr.

Das vom Kalbe durch wiederholte Lymphinjektionen gewonnene Immunserum hat sich somit tatsächlich ganz erheblich hochwertiger gezeigt als das Immunserum des einfach vaccinierten Kalbes; ob auch hochwertiger, als das der wiederholt injizierten Kaninchen, mag dahingestellt bleiben.

Es erübrigte nunmehr noch, zu prüfen, ob das Hautepithel-Immunserum, das in vitro allerdings keine Einwirkung auf die Kälberlymphe gezeigt hatte, möglicherweise in vivo sich ähnlich wirksam erweist, wie das Immunserum der Kälberlymphe.

Zu diesem Zwecke mischte ich das nach 3maliger Injektion gewonnene Hautepithel-Immunserum wie bei den vorigen Versuchen in dem Verhältnis von $\frac{1}{2}$, 1, 2, 4, 6 und 10 Teilen Serum auf je 1 Teil Kälberlymphe und verimpfte diese Mischungen nach 9 Stunden auf einem Kalbe. Der Erfolg war für das Hautepithel-Immunserum ein vollständig negativer, d. h. die Pockenentwicklung war durch keine der genannten Mischungen auch nur im geringsten beeinträchtigt worden, und ich konnte die regelrecht entwickelten Pocken nach 4×24 Stunden, wie das auch sonst hier zu geschehen pflegt, abnehmen.

Ein gleicher Versuch mit dem nach 5maliger Injektion gewonnenen Immunserum schlug ebenfalls fehl.

Hiermit schließe ich die Reihe der Versuche vorläufig ab. Ich bin mir dessen vollauf bewußt, daß im einzelnen sowohl, als auch bezüglich der Methode der Versuche manche Einwände sich erheben lassen werden. Denn einmal wird bei der Herstellung eines Immunserums von Vaccine kein einheitlicher Körper verwendet, sondern ein Gemisch von Körpern, unter denen allerdings der spezifisch virulente, sei er bakterieller oder anderer Art, sich befinden muß. Andererseits läßt sich gegen die Verimpfung verschiedener Impfstoffe auf ein und demselben Kalbe, wie es hier geschehen, Einspruch erheben. Indessen, die Arbeit soll, wie ich es in der Ueberschrift gekennzeichnet, zunächst nur orientierenden Wert haben und den Anlaß zu weiteren Experimentalstudien geben, durch die man vielleicht eher zur Erforschung des Wesens des immer noch unbekanntes Pockenvirus gelangen könnte, als es auf den

bisher eingeschlagenen Wegen der Forschung geschehen ist. Ich unterlasse es daher auch, aus den einzelnen Versuchen oder Versuchsreihen jetzt schon bestimmter formulierte Schlüsse zu ziehen, und verweise bezüglich der aus der Gesamtheit der Versuche gezogenen Schlußfolgerungen auf den Jahresbericht der Anstalt, welcher in den Medizinal-statistischen Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte demnächst zur Veröffentlichung gelangen wird.

Diese Schlußfolgerungen gipfeln im wesentlichen darin, daß man auch durch wiederholte Einspritzungen von Kuhpockenlymphe ein auf diese abtötend wirkendes Serum gewinnt, ferner, daß dieses Serum ein für Kuhpockenlymphe spezifisches Immunserum bildet, und daß man durch wiederholte Einspritzungen von Lympe ein hochwertigeres Immunserum erzeugen kann, als durch die gewöhnliche Hautimpfung.

Die nachstehende Zusammenstellung der Einzelresultate soll ihre Uebersicht erleichtern.

A. Uebersicht über die Einwirkung der verschiedenen Immunsera auf die Lympe, auf verschiedene Blutsera und auf Hautepithel.

In der obersten Reihe der Tabelle sind die Immunsera verzeichnet und zwar abgekürzt für das Serum des geimpften Kalbes gK, für das mit diesem Serum gewonnene Immunserum gK*, für das Immunserum der Kälberlymphe KL*, der Menschenlymphe ML*, des Kälberblutes K*, des Menschenblutes M*, des Hautepithels HE*. In der Reihe links sind von oben nach unten die Lympe- und Serumverdünnungen aufgeführt, auf welche das Immunserum zur Einwirkung gebracht worden ist, und zwar sind abgekürzt dieselben Bezeichnungen gewählt, nur daß die Buchstaben nicht mit einem Stern versehen sind.

	gK	gK*	KL*	ML*	K*	M*	HE*
gK		positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
KL	unentschieden	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
ML	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
K	negativ	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
M	negativ		negativ	positiv	negativ	positiv	negativ
HE	negativ		positiv	negativ	positiv	negativ	positiv
KL		positiv					

B. Uebersicht über die Verimpfung von Kälber- und Menschenlymphe nach vorheriger Vermischung mit verschiedenen Immun- und anderen Sera.

I.

	ML*	KL*	M*	K*	gK*	gK	K	HE*
ML	Keine Pustelbildung	Keine Pustelbildung	Unge- störter Pocken- verlauf					
KL	Nur ver- einzelte Pustel- bildun- gen	Verzöge- rung u. Hem- mung d. Pocken- bildung bezw. gänzlich Ausfall d. Pustel- bildung		Unge- störter Pocken- verlauf	Nur etwas ver- schmä- lerte Pock- cken, sonst un- gestörter Verlauf	Unge- störter Pocken- verlauf	Unge- störter Pocken- verlauf	Unge- störter Pocken- verlauf

II.

Blutserum des vaccinierten Kalbes vom		Blutserum des mit Lymphe eingespritzten Kalbes nach 4maliger bezw. 6maliger Einspritzung
4.	7. 14.	
Tage nach der Impfung		
KL Ungestörter Pockenverlauf	Verlangsamter Verlauf und ver- frühte Eintrocknung d. Pocken- striche	Selbst bei Zusatz von $\frac{1}{2}$ Teil Serum zu 1 Teil Lymphe keine charakteristische Pockenbildung mehr

Nachdruck verboten.

Die Tuberkulinreaktion.

[Ein Beitrag zur Feststellung ihres Wesens als Gattungsreaktion.]

Von Regimentsarzt Dr. Feistmantel,

Leiter der Untersuchungsstation am k. u. k. Garnisonspital Nr. 16 in Budapest.

Literatur.

Die ausschlaggebende Bedeutung, welche das Tuberkulin für die Diagnose von Frühstadien der Tuberkulose erlangt hat, sowie die in der letzten Zeit immer zahlreicher werdenden Berichte über günstige Heil-effekte mittels Tuberkulins, insbesondere aber die Wichtigkeit einer Früh-diagnose der Tuberkulose in der Armee, wo durch die Kasernierung von Tuberkulösen mit Gesunden der Propagierung des tuberkulösen Virus in gleicher Weise, wie in Strafanstalten, der ausgiebigste Vorschub geleistet werden kann, waren für mich der Anlaß, einige das Wesen der Tuberkulinreaktion betreffende Beobachtungen weiter zu verfolgen.

Seit dem Jahre 1890, in welchem Robert Koch mit der Entdeckung des Tuberkulins vor die Oeffentlichkeit trat und dasselbe als Diagnosticum, wie auch als Heilmittel bezeichnete, hat dieses Mittel einer wahren Sündflut von Anschuldigungen stand gehalten und Schritt für Schritt das Mißtrauen überwinden müssen, welches ihm nach den ersten, durch teilweise Unkenntnis seiner Wirkungen hervorgerufenen Mißerfolge entgegengebracht wurde.

Erst nach scharfer Betonung aller vor und bei Tuberkulininjektionen zu beobachtender Kautelen und nach Bekanntgabe der subtilen Dosierung der ausschließlich anzuwendenden, genau überprüften Tuberkulinpräparate gelang es dem Tuberkulin, sich einen immer größer werdenden Kreis überzeugter Anhänger unter Aerzten und Tierärzten zu erwerben.

Geradeso wie die Tuberkulinpräparate, insbesondere aber das alte, ursprüngliche Kochsche Tuberkulin als verlässliche, diagnostische Hilfsmittel rehabilitiert worden sind, ebenso wird die Zahl derjenigen Aerzte immer größer, welche über therapeutische Erfolge mit entsprechend dosiertem Tuberkulin bei ausgewählten, sorgfältig behandelten Fällen berichten.

Außer den günstigen Berichten über Tuberkulintherapie von seiten ihres unverdrossensten Vorkämpfers: Petruschky (35—37), liegen ähnlich lautende vor von Rembold (40), T. F. Krause (27) H. Stark

(Heidelberg), Bandelier (Eberswalde), Spengler und Turban (Davos) (46—49, 51), Richard Adler (Prag) (1) und von anderen.

Der ungerechtfertigten Vorwürfe, welche das Tuberkulin über sich ergehen lassen mußte, gibt es eine ganze Anzahl; die einen beschuldigten das Tuberkulin, daß es geradezu schädliche Wirkungen hervorrufe, andere leugneten auf Grund dieser oder jener Beobachtung die Spezifität seiner Wirkung.

Was die erstere Anschuldigung anbelangt, so wurde dieselbe dahin formuliert, daß durch die Tuberkulinreaktion die Tuberkelpilze „mobilisiert“ würden und den tuberkulinisierten Organismus überschwemmen. Alle diejenigen Stellen, welche unter Beobachtung der unerläßlichen Kautelen und in richtiger Dosierung Tuberkulin angewendet haben und objektiv ihre Resultate überprüften, haben auch nicht einen einzigen Fall einer derartigen „Mobilisierung“ erlebt oder eine Beobachtung gemacht, welche darauf hinweisen würde, daß für eine im Verlaufe des Krankheitsprozesses stattgehabte Disseminierung von Tuberkelpilzen die Tuberkulininjektion verantwortlich gemacht werden müßte. So unter anderen das Kochsche Institut für Infektionskrankheiten, welches in den Jahren 1891—97 über 2000 Personen zu diagnostischen Zwecken tuberkulinisierte. Ebenso Bang, der über ein Beobachtungsmaterial von mehr als 100000 Rindern verfügt.

Eine Reihe von anderen Untersuchern stellte in Abrede, daß die nach einer Tuberkulininjektion auftretende Reaktion spezifisch sei, weil

- I. Tuberkulose auch auf andere Stoffe als auf Tuberkulin reagieren,
- II. aber, weil das Tuberkulin auch bei anderen Krankheiten Reaktionen hervorrufe.

Ad I. Es wurde eine ganze Anzahl von Stoffen geltend gemacht, welche bei Tuberkulösen eine ähnliche Reaktion hervorzurufen im stande sein sollten, wie das Tuberkulin.

Eine solche Wirkung wurde von G. See (43) nach Nuclein-(phosphors. Proteïn), von Eber (10) nach Eserin-, Physostigmin, Pilocarpininjektion beschrieben.

Mathes (31) erblickt in der Tuberkulinreaktion eine Albumosenreaktion. Buchner (5), Hueppe (17), Roemer (41) und Klemperer (25) erklären die Tuberkulinreaktion durch Proteïnwirkung, da auch die Extrakte anderer Bakterien als diejenigen von Tuberkelpilzen, Tuberkulinreaktion geben.

Bereits Kasperek (24) hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Fieberkurve nach Proteïninjektionen von der Tuberkulinkurve total verschieden ist. Ebenso verläuft die Albumosenkurve anders als die Tuberkulinkurve. (Siehe die Tabelle in der Arbeit Zupniks (53): Ueber die Tuberkulinreaktion).

Von Einigen wurde die Beobachtung gemacht, daß schon Injektionen sterilen Wassers genügen, um bei tuberkulösen Tieren Fiebersteigerungen hervorzurufen.

Maragliano verwendet neben anderen Substanzen zur Immunisierung seiner antituberkulöses Serum liefernden Tiere ein Tuberkulin, welches kein Glycerin enthält, nachdem er die Beobachtung gemacht hatte, daß ein Zusatz von Glycerin die Toxizität des in den Tuberkelpilzen enthaltenen Giftes bedeutend erhöht. Schon Glycerin allein wirkt

in größeren Dosen toxisch. Im allgemeinen ist für die kleinen Laboratoriumstiere 1 Proz. Glycerin des Körpergewichts die letale Dosis. Meerschweinchen, denen 1 Proz. ihres Körpergewichts von Glycerin subkutan injiziert worden war, gehen ca. 1 Stunde nach der Injektion unter klonischen Krämpfen ein. Am Obduktionsbefunde ist eine allgemeine Hämolyse das hervorstechendste Merkmal.

Ich erwähne diese Tatsachen, weil bei der Anwendung des Glycerins in der Therapie (Jodoformglycerininjektionen etc.) nicht immer die Toxizität größerer Dosen dieses Alkohols berücksichtigt zu werden scheint. Jaksch (N o t h n a g e l: Spezielle Pathologie und Therapie) erwähnt einen Fall, wo bei einem Herrn, der 100 ccm Glycerin per rectum infundierte, kurze Zeit danach Erbrechen, heftige Schmerzen im Unterleib und Kollaps eintraten. Auch nach Glycerininjektionen zur Erzeugung künstlicher Frühgeburt (100 g) wurden Intoxicationerscheinungen ausgelöst und Mikulicz's beobachtete nach subkutaner Applikation von Jodoformglycerin Hämoglobininurie und Nephritis.

In den minimalen Mengen, in welchen indessen das Tuberkulin zu diagnostischen Zwecken angewendet wird (Milligramme, davon ca. die Hälfte Glycerin), kann das Glycerin für das Zustandekommen der Tuberkulinreaktion gar nicht in Betracht kommen.

Auch das in den für die Tuberkulingewinnung bestimmten Nährböden enthaltene Kochsalz ist, selbst in tausendfachen Multiplen der für diagnostische Tuberkulinimpfungen in Betracht kommenden Dosen nicht im stande, eine Temperatursteigerung hervorzurufen.

(Die Nährbouillon enthält 0,5 Proz. Kochsalz; das auf $\frac{1}{10}$ des Kulturvolumens eingedämpfte Tuberkulin also 5 Proz. Kochsalz, 1 ccm Tuberkulin 0,05, und die diagnostisch geimpften Milligramme Tuberkulin Hunderttausendstel eines Grammes Kochsalz.)

Wir können also das Gesagte dahin resumieren, daß bis jetzt kein Stoff beschrieben worden ist, welcher in den für diagnostische Tuberkulininjektionen in Betracht kommenden, minimalen Mengen in einem tuberkulösen Organismus jene Reaktion auszulösen im stande wäre, wie sie für Tuberkulinpräparate charakteristisch ist.

Ad. II. Was den zweiten Einwurf anbelangt, daß das Tuberkulin auch bei anderen Krankheiten eine Reaktion hervorzurufen im stande ist, so liegen tatsächlich diesbezügliche Beobachtungen in der Literatur vor. Wir möchten jedoch gleich an dieser Stelle bemerken, daß in allen denjenigen Fällen, in welchen bisher positive Tuberkulinreaktion in nicht tuberkulösen Organismen beobachtet worden ist, die betreffende Krankheit durch einen morpho- und biologisch dem Tuberkelpilz nahe verwandten Krankheitserreger bedingt war; überdies bieten die betreffenden Krankheiten klinisch meistens ein so markantes Bild, daß der Bedeutung des Tuberkulins als Diagnosticum von Anfängen der Tuberkulose durch die betreffenden Befunde nicht der geringste Eintrag geschieht.

So wurde positive Tuberkulinreaktion bei Aktinomykose beobachtet von Billroth und v. Eiselsberg, bei Lepra von Babes und Kalindero (3), Kaposi (22), Schwartz (45), Frühast (14), Kartulis (23), Daniellsen (7), Strauss (50), Azoulay (2). Insbesondere von amerikanischer Seite ist des öfteren darauf hinge-

wiesen worden, daß frische Fälle von kondyломatöser Syphilis manchmal auf Tuberkulininjektionen mit Allgemeinerscheinungen, Fieber etc. reagieren. In solchen Ausnahmefällen müßte mit der Anstellung der Tuberkulininjektion bis zum Abklingen der manifesten,luetischen Erscheinungen gewartet werden.

Ramon und Ravaut (39) haben aus dem Pilz der Fischtuberkulose (beschrieben von Dubard, Bataillon und Terre) ein Tuberkulin dargestellt, welches bei mit menschlicher Tuberkulose infizierten Meer-schweinchen eine positive Reaktion erzeugte. Und umgekehrt reagierten mit Fischtuberkulose infizierte Tiere positiv auf Säugetiertuberkulin. Diese Versuche waren von den genannten Autoren in der Absicht ausgeführt worden, um — wie dies auch von mehreren anderen Seiten mit Erfolg unternommen worden ist — aus für Säugetiere inoffensiven Pilzen ein bei Säugetiertuberkulose wirksames Tuberkulin darstellen.

Krompecher (28) erzielte bei mit Fischtuberkulose infizierten Meerschweinchen und Kaninchen schon durch die Injektion der minimalen Dosen von 0,1—1 mg Säugetiertuberkulins Temperatursteigerungen bis zu 0,8° und ist der Ueberzeugung, daß mit der Erhöhung der Dose eine zweifellos positive Reaktion (über 1°) zu erzielen gewesen wäre.

Lubarsch und Mayer machten die Beobachtung, daß perlsüchtige Kühe auf aus menschlichen Tuberkelpilzen dargestelltes Tuberkulin reagierten.

In jüngster Zeit veröffentlichte Zupnik (53) eine Reihe von hierher gehörigen Untersuchungsergebnissen. Zupnik infizierte seine Versuchstiere mit verschiedenen Arten von dem Tuberkelpilz verwandten Mikroben und prüfte die erkrankten Tiere mit von den Höchster Werken bezogenem, aus Säugetiertuberkelpilzen hergestelltem *Tuberculinum vetus Koch* (Titer = letale Dose für tuberkulöse Meerschweinchen [Woche? Gewicht?] = 0,10 cm).

Er erhielt bei 6 (unter 12) mit säurefesten Pilzen infizierten Tieren eine im Sinne der im nachstehenden mitgeteilten Forderungen positive Reaktion. Von mit *Streptotricheen* infizierten Tieren reagierten mit 3 verschiedenen Arten infizierte Tiere positiv auf Tuberkulin.

Allerdings hat Zupnik, um den bewußten Forderungen gerecht zu werden, relativ sehr hohe Dosen von Tuberkulin angewendet. Mit einer einzigen Ausnahme mußte er, um eine positive Reaktion zu erzielen, 0,14 ccm Tuberkulin injizieren.

Was nun meine eigenen diese Frage berührenden Versuche anlangt, so bezogen sich dieselben im wesentlichen auf die Prüfung des Verhaltens

I. von Organismen, welche mit einem den menschlichen Tuberkelpilzen morpho- und biologisch nahestehenden, äußerst virulenten Pilze (*Streptothrix farcinica*) infiziert waren, gegenüber einem aus menschlichen Tuberkelpilzen dargestellten Tuberkulin;

II. von Organismen, welche mit menschlichen Tuberkelpilzen infiziert waren, gegenüber dem ganz nach Art des *Tuberculinum vetus* aus der genannten *Streptothrix farcinica* dargestellten Gifte.

Als ich meine Untersuchungen begann, vermutete ich mit Rücksicht auf gewisse Ergebnisse der biochemischen Forschung, daß ein mit einem

bestimmten Pilz infizierter Organismus auf die Gifte derselben Pilzart viel stärker reagieren müsse als auf diejenigen einer verwandten, derart, daß mit der Abnahme der morphologischen Verwandtschaft auch die Reaktion auf die von der verwandten Art produzierten Gifte schwächer werden müsse; daß also in der Tuberkulinreaktion nicht eine absolut spezifische Art-, sondern wahrscheinlich eine spezifische Gattungsreaktion vorliege; gerade so, wie Blutpräzipitine gegen Blut derselben Art am stärksten, gegen das Blut verwandter Arten bezw. Familien der Abnahme der Verwandtschaft entsprechend immer schwächer reagieren. (Nuttalls: „Mammalian reaction“.)

Bezüglich des Zustandekommens der allgemeinen Erscheinungen (Temperatursteigerung etc.) bei der Tuberkulinreaktion war für mich folgende Erwägung maßgebend.

Aus den tuberkulösen Herden gelangt ständig freiwerdendes Tuberkulin in die Zirkulation; wird nun von außen her Tuberkulin in die Zirkulation eingebracht, so wird um die tuberkulösen Herde herum eine lokale Reaktion hervorgerufen, indem, im Sinne Hertwigs, die positiv chemotaktische Wirkungskraft der tuberkulösen Herde erhöht wird. Ein Bild von dem Zustandekommen einer solchen Chemotaxis gibt folgendes Experiment. Aus einer in Apfelsäure erfolgten Spermatozönaufschwemmung wandern die Spermatozöen nur dann in eine in diese Aufschwemmung getauchte, mit Apfelsäurelösung gefüllte Kapillare ein, wenn die beiden Apfelsäurelösungen in einem bestimmten Konzentrationsverhältnis zueinander stehen. Wenn die Konzentration in der Kapillare sinkt, dann hört jede positive Chemotaxis auf, und bei einer noch weiter fortgesetzten Abschwächung der Konzentration in der Kapillare kommt es sogar zu einer negativen Chemotaxis. (Pfeffersche Versuche.)

Der tuberkulöse Herd erzeugt beständig Tuberkulin, dieses gelangt in die Zirkulation; wird von außen her Tuberkulin in den Körper eingebracht, so wird die Konzentration des Tuberkulins im Kreislauf erhöht, es wird aus diesem Grunde aus dem tuberkulösen Herde weniger Tuberkulin frei, die Konzentration des im tuberkulösen Herd enthaltenen Tuberkulins wird erhöht und infolgedessen wirkt der tuberkulöse Herd in erhöhtem Maße positiv chemotaktisch auf die Leukocyten.

Das bei der Tuberkulinreaktion auftretende Fieber kann m. E. nur auf die Weise zu stande kommen, daß die zu dem tuberkulösen Herde neu zuströmenden Leukocyten durch Aufnahme größerer Mengen von Tuberkulin oder von anderen Giften aus dem tuberkulösen Herde eine Schädigung ihres Protoplasmas erleiden und gewisse veränderte Teile ihres Protoplasmas abstoßen. Diese abgestoßenen Protoplasteile wirken, in die Zirkulation gelangt, pyrogen.

So wären also die eigentliche Ursache des Fiebers die bei der lokalen Reaktion (um die tuberkulösen Herde herum) freiwerdenden veränderten Plasmabestandteile der Leukocyten und das Fieber ein sinnfälliges Zeichen des Kampfes, welchen die Leukocyten an der Grenze des gesunden Gewebes gegen die tuberkulösen Gifte führen.

In frischen Tuberkulosefällen ist der Organismus, bezw. sein leukocyitärer Apparat, noch ungemein empfindlich gegen eine jede künstliche Erhöhung des Tuberkulingehaltes seines Blutes, d. i. gegen jede Störung des Konzentrationsverhältnisses zwischen den kreisenden und den in den tuberkulösen Herden enthaltenen Tuberkulinmengen.

Auch die Einbringung eines verwandten Giftes wirkt auf den gegen

das ihn durchkreisende Gift hypersensiblen Organismus immer noch als pyrogener, durch die Folgen der oben geschilderten Störung des Konzentrationsverhältnisses erklärbarer Reiz, aber der Abnahme der chemischen Verwandtschaft beider Gifte entsprechend, in abnehmendem Maße.

Eigene Versuche.

Wie bereits erwähnt, bezogen sich meine Versuche im wesentlichen auf das Verhalten

I. von Organismen, welche mit einem den menschlichen Tuberkelpilzen morpho- und biologisch nahestehenden, für die betreffenden Organismen äußerst virulenten Pilz (*Streptothrix farcinica*) infiziert waren, gegenüber einem aus menschlichen Tuberkelpilzen dargestellten Tuberkulin;

II. von Organismen, welche mit menschlichen Tuberkelpilzen infiziert waren, gegenüber dem ganz nach Art des *Tuberculinum vetus* aus der genannten *Streptothrix farcinica* dargestellten Gifte.

a) Eigenschaften der verwendeten Virus- und Giftarten.

Die verwendeten Tuberkelpilze waren vor ca. 2 Jahren aus tuberkulösen Lymphknoten (homo) reingezüchtet worden und seither stets auf künstlichen Nährböden (Roux'sche Glycerin-Kartoffelröhrchen), bei 2—3mal im Jahre erfolgter Umimpfung, in Bruttemperatur (37°) weiter gezüchtet worden. 1 mg davon tötete subkutan geimpfte Meerschweinchen von ca. 300 g in 6—8 Wochen.

Das verwendete Tuberkulin war vom Dozenten Dr. Detre-Deutsch im hiesigen Jenner-Pasteur-Institut auf die in dem von uns verfaßten Buche „Die Impfstoffe und Sera“ (Leipzig. Thieme. 1903. p. 229) angegebene Weise hergestellt worden (aus Pilzen menschlicher Tuberkulose [tuberkulöse Lymphknoten] gewonnen). Sein Titer betrug 0,2 ccm, d. h. mit 1 mg Pilzmasse infizierte, in der 3. bis 4. tuberkulösen Woche befindliche Meerschweinchen von ca. 300 g wurden durch die genannte Tuberkulinmenge in ca. 24 Stunden getötet. Vollkommen gesunde Meerschweinchen reagierten deutlich positiv auf 0,15 ccm meines Tuberkulins. Den Minimalwert eines Tuberkulins zu bestimmen, ist wegen individueller Schwankungen bei den einzelnen Versuchstieren eine prekäre Aufgabe, selbst bei Injektion vollkommen gleicher Virusdosen bei gleich schweren Tieren entwickelt sich die Tuberkulose nicht in allen Tieren gleich schnell und in derselben Intensität, infolgedessen reagieren die Tiere zu einer bestimmten Zeit nach der Injektion nicht ganz gleich, und selbst wenn die Tuberkulose in gleicher Weise zur Entwicklung gekommen wäre, muß eine positive Tuberkulinreaktion nicht bei allen Tieren auf dieselbe Minimaldosis eintreten.

Im allgemeinen gaben mir 300 g schwere Meerschweinchen, welche vor ca. 2 Wochen mit 1 mg des obengenannten Virus subkutan infiziert worden waren, auf 4—5 mg meines Tuberkulins eine den im untenstehenden angeführten Forderungen entsprechende positive Reaktion.

Die Verdünnungen aus Roh-Tuberkulin wurden vor jeder Injektion frisch, mittels sterilen Wassers hergestellt. Die Injektionsmenge betrug in jedem Falle 1 ccm Flüssigkeit.

Die für meine Versuche in Verwendung gekommene *Streptothrix farcinica* hatte ich im Mai 1902 im Institut Pasteur von Herrn Jean

Binot der diesen Stamm seit vielen Jahren auf Roux'schen Glycerin-Kartoffelröhrchen weiter züchtet, erhalten. Ich habe gerade diese Streptothrixart für meine Versuche gewählt, weil ich mich bereits vor einigen Jahren eingehender mit dem Studium ihrer morphologischen Eigenschaften beschäftigt habe. Aus meiner diesbezüglichen Arbeit möchte ich bloß 3 auf die nahe Verwandtschaft von Tuberkel- und Streptothrix farcinica-Pilz hinweisende Punkte rekapitulieren. Ich fand seinerzeit:

1) Säure- und Alkoholfestigkeit der Streptothrix-Fäden in Aufstichpräparaten aus Eiter und Kulturen auf den verschiedensten Nährböden, sowie in Schnitten durch Gewebe erkrankter Tiere.

2) Leichte Färbbarkeit nach Gram, trotz nachfolgender, längerdauernder Entfärbung mittels Alkohols.

3) Drüsen- und Keulenbildung in den Lungen intravenös (V. jugularis) geimpfter Meerschweinchen (3 Wochen nach der Impfung).

Nach intraperitonealer Einimpfung von 1 mg einer 3—4 Wochen alten Reinkultur gehen Meerschweine von ca. 300 g in 2—2½ Wochen an einer ausgedehnten Knötchenerkrankung (Knötchen an allen Abdominalorganen, hauptsächlich subserös sitzend) zu Grunde. Das Omentum majus ist zu dieser Zeit zu einer starren, kleinfingerdicken, höckerigen Schwarte umgewandelt, welche von zahllosen käsigen Herden durchsetzt ist. Die Knötchenerkrankung entwickelt sich also hier um ca. ein Drittel der Zeit rascher als bei der Einimpfung einer gleichen Menge von kräftigem tuberkulösem Virus. Diese hochgradige Pathogenität, sowie der markante Obduktionsbefund waren für mich weitere Gründe, diesen Pilz für meine Versuche zu wählen.

Das Farcingift wurde in einer der Gewinnung des alten Tuberkulins analogen Weise dargestellt. Es wurden mehrere mit glycerinierter (4 Proz.) Rindfleischbouillon zur Hälfte gefüllte Kölbchen mit jungen Kulturmassen geimpft und bei 37° gehalten. Nach ca. 6—8 Wochen, wenn die Kulturen ein reichliches Oberflächenwachstum und auch größere Mengen von charakteristischem, gelatinös-körnigem Bodensatz zeigten, wurden sie der Wirkung 100-grädigen Dampfes durch eine halbe Stunde hindurch ausgesetzt; dann wurde die so sterilisierte Kulturflüssigkeit über dem Wasserbade in einer offenen Porzellanschale auf $\frac{1}{10}$ ihres Volums eingedampft; die Temperatur der einzudampfenden Flüssigkeit durfte dabei höchstens 80 Zentigrade erreichen. Die konzentrierte Flüssigkeit wurde über sterile Papierfilter filtriert; das Filtrat stellte das für die Verdünnung verwendete Rohgift dar.

Was den Titer meines Farcingiftes anbelangt, so war die niedrigste Dosis, auf welche mit Streptothrix farcinica infizierte Tiere eine zweifellose, im Sinne der untenstehenden Forderungen positive Reaktion gaben 1 cg Rohgift (= 0,01 ccm). Gesunde Tiere reagierten auf 0,5 ccm Farcinicagift deutlich. Was die Ermittlung der für infizierte Tiere letalen Dosis anbelangt, so konnte ich bloß konstatieren, daß auf 1 ccm eine überaus heftige Fieberreaktion, aber noch nicht Tod innerhalb der nächsten Tage erfolgte.

Was die Art der Impfung anbelangt, so wurden dafür aus ca. 4 bis 6 Wochen alten Kulturen (sowohl Tuberkulose wie Str. farcinica) Emulsionen von 1 mg in 1 ccm sterilen Wassers hergestellt und die Emulsionen von Farcinicapilzen intraperitoneal, diejenigen der Tuberkulosepilze subkutan injiziert. Dieser Unterschied im

Infektionsmodus wurde auf Grund folgender Beobachtung notwendig: Ich hatte mich ursprünglich, um rascher mit meinen Untersuchungen vorwärts zu kommen, dafür entschlossen, sowohl die Tuberkel- als die Farcinpilze intraperitoneal zu impfen. Bei der *Streptothrix farc.* reagierten die Tiere auch alle prompt und gleichmäßig; am 4.—5. Tage nach der Injektion bereits Fieber, dann Abmagerung unter Fortdauer des Fiebers, Gewichtsverlust, zwischen dem 15.—20. Tage Tod. Ich war an der Hand dieser Symptome stets in der Lage, den Beginn der Krankheit konstatieren zu können.

Anders die mit Tuberkelbacillen intraperitoneal geimpften Meerschweinchen. Bei diesen wurde der Beginn der tuberkulösen Erkrankung, trotz Anwendung gleicher Mengen desselben Impfmateriales, nicht immer zur selben Zeit durch Gewichtsabnahme, Abmagerung und Temperatursteigerungen manifest. Die letzteren konnten auch gar nicht abgewartet werden, weil sie die bei Meerschweinchen mit Rücksicht auf die normalen Temperaturschwankungen ohnehin schwierigen Verhältnisse für die Tuberkulinproben noch mehr kompliziert hätten. Aus diesen Gründen injizierte ich das tuberkulöse Virus subkutan. Bei dieser Gelegenheit machte ich eine Beobachtung, welche eine aus der jüngsten Zeit datierende Mitteilung von *Detre-Deutsch* bestätigt (Reinfektion und Primäraffekt. *Budapesti Orvosi Ujság.* 1904. 4. Februar).

Ich impfte 7 Meerschweinchen intraperitoneal mit tuberkulösem Virus. Eines dieser Tiere verendete spontan in der 3. Woche nach der Injektion. Da ich bei der Obduktion fast gar keine Spuren einer tuberkulösen Erkrankung konstatieren konnte, entschloß ich mich, um rascher vorwärts zu kommen, die restierenden 6 Tiere noch einmal mit derselben Menge desselben Virus (1 mg *T. b. c. hominis*) subkutan zu impfen; außerdem wurden noch 2 andere, gesunde Meerschweinchen subkutan mit der gleichen Menge desselben Virus geimpft. 10 Tage nach der subkutanen Impfung zeigten die beiden bloß subkutan geimpften Meerschweinchen ein erbsengroßes Infiltrat an der Injektionsstelle, während die anderen 6 Meerschweinchen an der subkutanen Injektionsstelle nur ganz unbedeutende Infiltrate aufwiesen.

Detre-Deutsch, welcher ähnliches beobachtete, führt diese Erscheinung darauf zurück, daß durch die vorausgegangene latente Tuberkuloseerkrankung die mobilen Blutleukocyten vergiftet worden sind, weshalb sie, gewissermaßen mit Gift gesättigt, auf jene Bacillendosis nicht mehr reagieren, welche den normalen, nicht giftdurchtränkten Leukocyten gegenüber positiv chemotaktisch wirken würde.

Ein jedes der verwendeten Versuchstiere wurde genau obduziert und mußte die Obduktion bei den Kontrolltieren oder bei denjenigen, welche zur Konstatierung der Giftdosen für gesunde Organismen dienen sollte, völlig gesunde Organe ergeben, bei den mit *Streptothrix farcinica* oder mit Tuberkelpilzen infiziert gewesenen Tieren mußte auf Grund des anatomischen Befundes, sowie an der Hand von Aufstrichpräparaten und von Kulturen die betreffende Krankheit mit Bestimmtheit nachgewiesen worden sein, bevor zur Verwertung des Befundes geschritten wurde.

Temperaturmessungen. Dieselben wurden mit kleinen, schmalen, englischen Minutenthermometern vorgenommen, welche zuvor auf das sorgfältigste geprüft und mit anderen Thermometern verglichen worden waren. Bei jeder Messung wurde das Thermometer gleich tief (bis zur

Marke 36°) eingeschoben und für dieselben Tiere immer dasselbe Instrument verwendet.

Die Versuchstiere wurden am Tage der Injektion des Tuberkulins oder des Farcingiftes jedes 1—1½ Stunden, an den 2, der Injektion vorangegangenen Tagen, sowie an dem der Injektion folgenden Tage alle vier Stunden gemessen. Die beobachteten, normalen Temperaturschwankungen meiner Meerschweinchen betragen maximal 0,5—0,7°. Tiere, welche höhere Schwankungen zeigten, wurden von den Versuchen ausgeschlossen. Ich trachtete außerdem bei den verwendeten Tieren durch gleichmäßige Temperierung des Stalles, durch Ausschaltung von grellem Sonnenlicht, sowie durch gleichartige und regelmäßige Fütterung größere Temperaturschwankungen zu verhüten.

Die mit *Strept. farcinica* infizierten Tiere wurden am 3. Tage nach der Infektion mit Tuberkulin bzw. mit Farcingift geprüft, da diese Tiere meist am 5., oft aber schon am 4. Tage nach der Injektion zu fiebern begannen; ich verlor infolge dieses Umstandes, als ich meine Versuche begann, 2 Versuchsreihen.

Die mit Tuberkelpilzen (subkutan) infizierten Tiere wurden mit Tuberkulin resp. mit Farcingift geprüft, wenn sich bei ihnen an der Infektionsstelle ein deutliches Infiltrat entwickelt hatte (10.—12. Tag).

Was die Tuberkulinreaktion selbst betrifft, so stellte ich an eine positive Reaktion die strengen Forderungen, welche Zupnick in seiner mehrfach erwähnten Arbeit (p. 297) geltend macht, nämlich

1) Anstieg der Temperatur um mindestens 1,2°; in meinen Versuchen: Anstieg um mindestens 1,2° über das an den der Injektion vorhergehenden Tagen beobachtete Temperaturmittel.

2) Typische Tuberkulinkurve, d. h. Anstieg, der in ca. 4 Stunden seinen Gipfel erreicht, steiler Abfall zur Norm, beide im Zeitraume von ca. 8 Stunden abgelaufen.

3) Anstieg der Tuberkulinkurve zu einer Höhe, die von der Temperatur des Versuchstieres an keinem der vorhergehenden Tage und keinem der Injektion unmittelbar folgenden erreicht wurde.

Diesen 3 Forderungen habe ich bei der Verwertung meiner Resultate als 4. angeschlossen:

Hervorrufung einer im Sinne der drei vorstehenden Forderungen positiven Reaktion durch geringe Dosen von Tuberkulin oder Farcingift, höchstens durch einige wenige Centigramme.

Das injizierte Flüssigkeitsquantum der mit sterilem Wasser hergestellten Verdünnung des Tuberkulins sowie des Farcingiftes betrug in jedem Falle 1 ccm. Injiziert wurde subkutan. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten.

Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. Carl Stäubli, med. pract. aus Zürich.

Mit 6 Kurven.

Es gibt wohl kaum ein Thema in der gesamten weiteren Bakteriologie, das schon so viel und nach so verschiedenen Seiten hin Gegenstand wissenschaftlicher Betrachtungen und theoretischer Deutungen geworden wäre, wie gerade das Agglutinationsvermögen. Nicht nur seine Bedeutung als interessante wissenschaftliche Erscheinung und der große praktische Wert, den es durch die Einführung in die klinische Diagnostik erlangte, boten Anregung genug zu immer neuen Forschungen, sondern auch die Frage, welche Stellung ihm in der Immunitätsfrage anzuweisen sei, veranlaßte manche Untersuchungen. Das so äußerst wichtige Problem der zeitlichen und permanenten Festigkeit eines gewissen Organismus gegenüber ansteckenden Krankheiten ist in den Brennpunkt wissenschaftlicher Forschung gerückt, seitdem sich die Anschauung Bahn gebrochen hat, daß zur Erzeugung einer Infektionskrankheit nicht nur die betreffenden pathogenen Mikroorganismen nötig sind, sondern hauptsächlich auch eine bleibende oder auch zur Zeit der Infektion vorhandene Widerstandslosigkeit des befallenen Organismus gegenüber dem betreffenden Krankheitsgift. Eng damit verknüpft ist die ebenso praktisch wie wissenschaftlich bedeutsame Frage, ob und eventuell in welchem Grade von einer Mutter die Immunität, die sie durch siegreiches Ueberstehen einer Infektion mit gewissen pathogenen Keimen gegenüber letzteren erworben hat, auf den fötalen Organismus vererbt werde. Gerade dieses Thema birgt in sich so großes Interesse, daß ich dem Rate des Herrn Privatdozenten Dr. Silberschmidt gerne Folge leistete, und die Vererbung der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus zum Gegenstand eingehender Studien machte. Für diese Anregung sei an dieser Stelle mein bester Dank ausgesprochen. Sind auch die Ansichten darüber noch sehr verschieden, ob und inwieweit den Agglutininen überhaupt ein Wert als eigentliche „Immunkörper“ beizumessen ist, so berechtigen doch die unbestreitbar im weitesten Maße vorhandenen Analogien zwischen ihnen und den letzteren auch zu Schlüssen von mehr allgemeiner Bedeutung. In rein technischer Hinsicht bieten die Agglutinine zudem den großen Vorteil, daß sie die relativ genauesten Beobachtungen und Mengenbestimmungen ermöglichen. Es lag in der Natur der Sache, daß meine Untersuchungen über viele Monate fortgesetzt werden mußten. Dieselben waren schon zu einem gewissen Abschlusse gelangt, als ich durch eine Veröffentlichung von Jurewitsch veranlaßt wurde, auch meine bis dahin gewonnenen Resultate in einer vorläufigen Mitteilung bekannt zu geben (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. Abt. I. Orig. 1903. No. 6). Eng verknüpft mit der Vererbung ist auch die Frage, ob mit der Milch Antikörper von einer immunisierten Mutter an den Säugling abgegeben werden. Positive Befunde, die ich nach dieser Seite konstatieren konnte, gaben nun ihrerseits wieder den

Anstoß zu vergleichenden Untersuchungen über die Ausscheidung der Agglutinine durch die anderen drüsigen Organe. Die Resultate dieser Versuchsreihe finden sich zusammengestellt in No. 5 des Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. Im weiteren führten mich Schwierigkeiten, die sich mir anfänglich bei der Prüfung der Frage der Vererbung entgegenstellten und die darin bestanden, daß nach den Injektionen bei den Tieren regelmäßig Abort eintrat, zu systematischen Studien über die rationellste Immunisierungsmethode. Auch beim Menschen ist dieser deletäre Einfluß des Typhus abdominalis auf den Verlauf der Schwangerschaft bekannt. Nach Schauta tritt in ca. 61 Proz. der Fälle vorzeitige Unterbrechung der Gravidität ein. Es mußte also einerseits danach getrachtet werden, die Tiere möglichst schonend zu behandeln, andererseits war es aber wünschenswert, bei den Muttertieren auf die Zeit der Geburt hin einen möglichst hohen Agglutinationswert zu erreichen, um auch bei eventuell geringem Gehalte des fötalen Blutes ihn noch nachweisen zu können. Es galt demnach, die Behandlung so einzurichten, daß Geburt und möglichst hoher Agglutinationstiter zeitlich zusammenfallen. Dies führte zu genauerer Beobachtung des Anstiegs und Verlaufes der Agglutinationskurve bei Tieren, die mit verschiedenen Mengen von Bakterienmaterial behandelt worden waren. Zu den Injektionen wurden 48-stündige Agarkulturen verwendet, die mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in zugeschmolzenen Kolben durch 1-stündiges Erhitzen auf dem Wasserbad auf 60° abgetötet und je nach Notwendigkeit mit physiologischer Kochsalzlösung direkt vor den Injektionen noch verdünnt worden waren. Letztere selbst geschahen subkutan. Auch das Typhusmaterial, die Methode der Blutentnahme mit den von mir angegebenen Pipetten und die Bestimmung des Agglutinationstiters waren dieselben, wie sie mir bei meinen Untersuchungen über die Ausscheidung gedient hatten und die ich in der diesbezüglichen Veröffentlichung des näheren beschrieben habe.

Es war nicht ohne Interesse, bei einigen Tieren die Agglutinationskurve über einen längeren Zeitraum hin zu verfolgen. Es zeigte sich aber, daß der Anstieg der Kurve ein derartig progressiv rapider ist, daß es nicht möglich war, sie nach der gebräuchlichen Art, bei der die Ordinate durch stetige Addition eines konstant bleibenden Wertes aufgebaut ist, darzustellen. Als Beispiel sei hier eine Kurve gewählt, bei der auf der Abszisse gleiche Zeiträume eingetragen werden, und bei der innerhalb der letzteren jeweiligen die bereits vorhandene Quantität, die auf den Ordinaten verzeichnet wird, um dieselbe Zahl sich vervielfacht, wie dies z. B. bei der Generationsfolge der Fall ist. Am Ende der ersten Zeiteinheit sei der Wert 25 erreicht, von da verdopple er sich innerhalb einer jeden weiteren Zeiteinheit. Am Ende von 6 Zeiteinheiten ist bereits der Wert 800 erreicht. In das Kurvenschema, bei dem in der Ordinate die Werte additionell anwachsen, d. h. bei der die Skala der Y-Achse nach der Formel $2^x a$ ($a = \frac{1}{2}$, des ersten Echellewertes) aufgeführt ist, eingetragen, erhalten wir das typische Bild der Exponentialkurve (Kurve Ia). Sie bringt bildlich die rasche, stets wachsende Zunahme der absoluten Menge zur Anschauung. Wird aber die Kurve in ein Schema eingezeichnet, bei dem eine jede Ordinatenechelle die doppelte Quantität der vorhergehenden repräsentiert, d. h. die Werte der Y-Achse exponentiert nach der Formel $2^x a$ ($a = \frac{1}{2}$, des niedersten Echellewertes) ansteigen (Kurve Ib), so erhalten wir beim selben vorigen Fall eine gerade Linie. Sie illustriert uns weniger

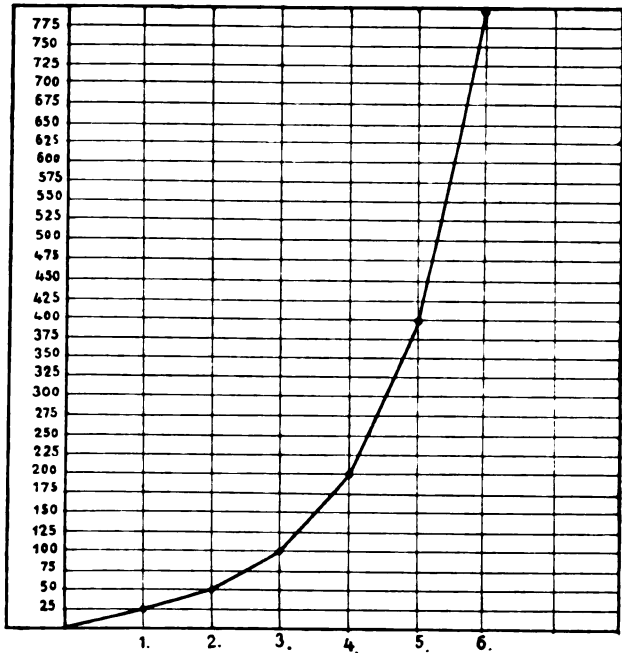
die absolute Menge, als vielmehr das Gleichbleiben der relativen Zunahmetendenz. Würde es sich (um ein Beispiel zu wählen) um die Vermehrung von Bakterien durch Zweiteilung handeln, so wäre direkt aus dem Verlauf der Kurve, in diesem Falle der Geraden, ersichtlich, daß wir es mit derselben Vermehrungstendenz zu tun haben, ob nun in derselben Zeiteinheit ein Wert von 25 auf 50 oder ein solcher von 400 auf 800 ansteigt.

Obschon ich bei meinen Aufzeichnungen vorerst aus rein praktischen Gründen gezwungen war, diese Kurvenschreibung zu wählen, da nur durch sie die Darstellung des gesamten Kurvenlaufes überhaupt möglich war, so zeigte sich doch mit der Zeit ein gesetzmäßiger Verlauf, der auch in theoretischer Hinsicht nicht ohne Interesse sein dürfte.

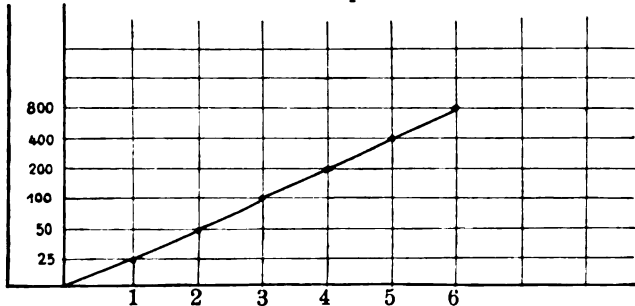
Nach diesen wenigen, das Kurvensystem erklärenden Worten seien nun die Untersuchungsergebnisse wiedergegeben. Als untersten Wert nahm ich 1 : 25 an, d. h. bezeichnete das Blut als positiv agglutinierend, wenn es bei einer 25-fachen Verdünnung noch typische Agglutination hervorrief.

Bei höheren Konzentrationen können bereits andere, normal im Blute vorhandene Stoffe Täuschung hervorrufen. Im ganzen habe ich 42 noch nicht vorbehandelte Meerschweinchen untersucht. Keines derselben zeigte bei obigem Minimum der Verdünnung Agglutination. Frühestens konnte Agglutination am 3. Tage nach der 1. Injektion, meist indes erst am 4. Tage nachgewiesen werden. Von dem Moment des ersten Auftretens an steigt dann der Gehalt sehr rapid.

Kurve Ia. Ordinate additionell annähernd.



Kurve Ib. Ordinate mit potentionalem Zuwachs.



Tabellarische Zusammenstellung des Ansteigens des Agglutinationstitres in den ersten 3—4 Wochen.

Bezeichnung des Tieres	Gewicht	Injektion	Titer nach			
			1	2	3	4
			Wochen nach der 1. Injektion			
A	627 g	1. 11. Juni $\frac{1}{5}$ Kultur	1:50	800	6400	25 000
		2. 24. " $\frac{1}{5}$ "				
B	694 "	1. 11. " $\frac{1}{5}$ "	1:100	800	1600	
		2. 17. " $\frac{1}{5}$ "				
		3. 21. " $\frac{1}{5}$ "				
		4. 27. " $\frac{1}{5}$ "				
C	260 "	1. 11. " $\frac{1}{5}$ "	1:50	200	800	3200
		2. 21. " $\frac{1}{5}$ "				
		3. 27. " $\frac{1}{5}$ "				
		4. 1. Juli $\frac{1}{5}$ "				
		5. 7. " $\frac{1}{5}$ "				
D	291 "	wie C	1:50	400	1600	12 800
F	250 "	1. 22. Juli $\frac{1}{3}$ Kultur	1:50	400	1600	
G	210 "	id.	1:200	800	3200	
P	265 "	1. 8. Okt. $\frac{1}{60}$ Kultur	1:400	1600	3200	6400
		2. 15. " $\frac{1}{60}$ "				
		3. 22. " $\frac{1}{60}$ "				
		4. 29. " $\frac{1}{60}$ "				
Q	250 "	wie P	1:200	800	3200	6400
R	680 "	1. 13. Okt. $\frac{1}{30}$ Kultur	1:50	400	1600	6400
		2. 15. " $\frac{1}{10}$ "				
		3. 22. " $\frac{1}{10}$ "				
		4. 29. " $\frac{1}{5}$ "				
S	560 "	wie R	1:50	400	3200	12 800
U	680 "	1. 15. Okt. $\frac{1}{30}$ Kultur	1:100	1600	12 800	
		2. 22. " $\frac{1}{10}$ "				
		3. 29. " $\frac{1}{5}$ "				
V	710 "	1. 22. Nov. $\frac{1}{30}$ "	1:100	3200	6400	
		2. 26. " $\frac{1}{3}$ "				
W	840 "	1. 26. Nov. $\frac{1}{60}$ "	1:25	200	800	
		2. 3. Dez. $\frac{1}{20}$ "				
		3. 10. " $\frac{1}{20}$ "				
X	1060 "	1. 26. Nov. $\frac{1}{20}$ "	1:200	800	3200	
		2. 3. Dez. $\frac{1}{20}$ "				
		3. 20. " $\frac{1}{20}$ "				
I	398 "	1. 11. Juni $\frac{1}{5}$ "	1:50	400	1600	$\frac{1}{6}$
		2. 17. " $\frac{1}{2}$ "				
		3. 24. " $\frac{2}{5}$ "				

Die Werte nach der 4. Woche konnten nicht überall festgesetzt oder wenigstens verwendet werden, teils weil dieselben überhaupt nicht mehr bestimmt worden waren wegen Abgang des Tieres oder eingetretener Geburt, teils weil, wie wir später sehen werden, bei den Tieren, die nur einmal behandelt worden waren, der erstmalige höchste Wert bereits schon nach der 3. Woche eingetreten war. Ziehen wir aus obigen Daten den Durchschnitt, so ergeben sich nach der

die mittleren Werte von $\begin{matrix} 1. & 2. & 3. & [4.] \\ & & & \text{Woche nach Beginn der Injektionen} \end{matrix}$ 1:110 850 3400 [10 000]

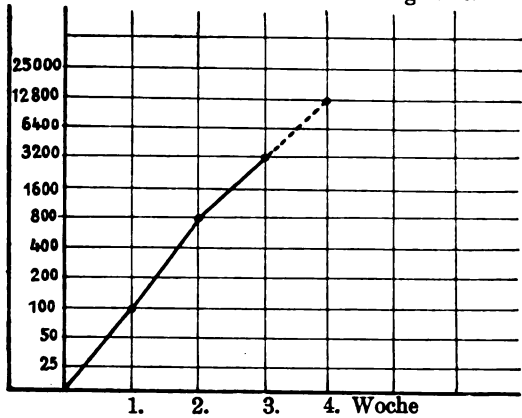
Tragen wir die gefundenen Werte in unser Kurvenschema ein, so zeigt es sich, daß die mittlere Anstiegskurve ungefähr eine Gerade repräsentiert, d. h. die Zunahme des Agglutiningehaltes erfolgt nicht in einfachen Proportionen, sondern nach Potenzen, und die relative Zunahmeenergie bleibt ungefähr konstant. Ohne damit irgendwie eine theoretische Deutung zu verbinden, dürfte sich doch auch

aus dieser Kurve ergeben, daß es sich bei der Agglutininbildung nicht um einen rein chemischen Sekretionsprozeß handelt, da in diesem Falle eher in gleichen Zeiteinheiten eine Addition ungefähr gleicher absoluter Mengen zu erwarten wäre, nicht dagegen dieser rapide, potentielle Anstieg.

Eine weitere interessante Tatsache, die sich aus den Befunden ergibt, ist die, daß die Höhe des gebildeten Agglutinin-

gehaltes in keinerlei direkte Beziehung zu bringen ist mit den injizierten Bakterienmengen. Im Gegenteil zeigen gerade die Tiere mit Einverleibung von sehr minimalen Mengen Bakteriensubstanz teilweise sehr hohe Werte. So fallen unter anderen die Titer der Tiere P und Q in die Augen, die nach Einverleibung von nur $\frac{1}{60}$ Agarkultur schon nach 1 Woche die Werte 1:400 und 1:200¹⁾ zeigten und deren Agglutiningehalt nach Injektion von überhaupt nur $\frac{1}{25}$ Kultur bis zu 1:6400 anstieg, während die Tiere mit $\frac{1}{5}$ Kultur Anfangsinjektion nach der 1. Woche meist niedere Titer aufwiesen, um dann allerdings nachher um so rascher zu steigen²⁾. 2 Meerschweinchen (H und L), die in einmaliger Injektion $\frac{3}{5}$ Kultur erhalten hatten, schloß ich nach 3 resp. 2 Wochen von der weiteren Untersuchung aus, da sie nach dieser Zeit kaum deutlich agglutinierendes Blut besaßen. Ein anderes Tier AA, das mit einer ganzen Kultur auf einmal behandelt worden war, kränkelte in der ersten Zeit stark, nahm aber später wieder bedeutend an Gewicht zu. Nach 1 Woche war in dessen Blut noch keine Spur von Agglutinationsfähigkeit zu konstatieren, nach der 3. Woche aber hatte es die Wertigkeit 1:6400 erreicht. In aller Würdigung der sehr ausgesprochenen individuellen Verschiedenheiten rücksichtlich der Reaktion auf die bakterielle Infektion hin, dürften diese Befunde wohl so zu deuten sein, daß bei stärkerer Anfangsinfektion der Organismus so leidet, daß er keine oder nur in geringem Maße „Gegenkörper“ zu produzieren vermag, während bei geringen injizierten Mengen

Kurve II. Eruierte mittlere Anstiegskurve.

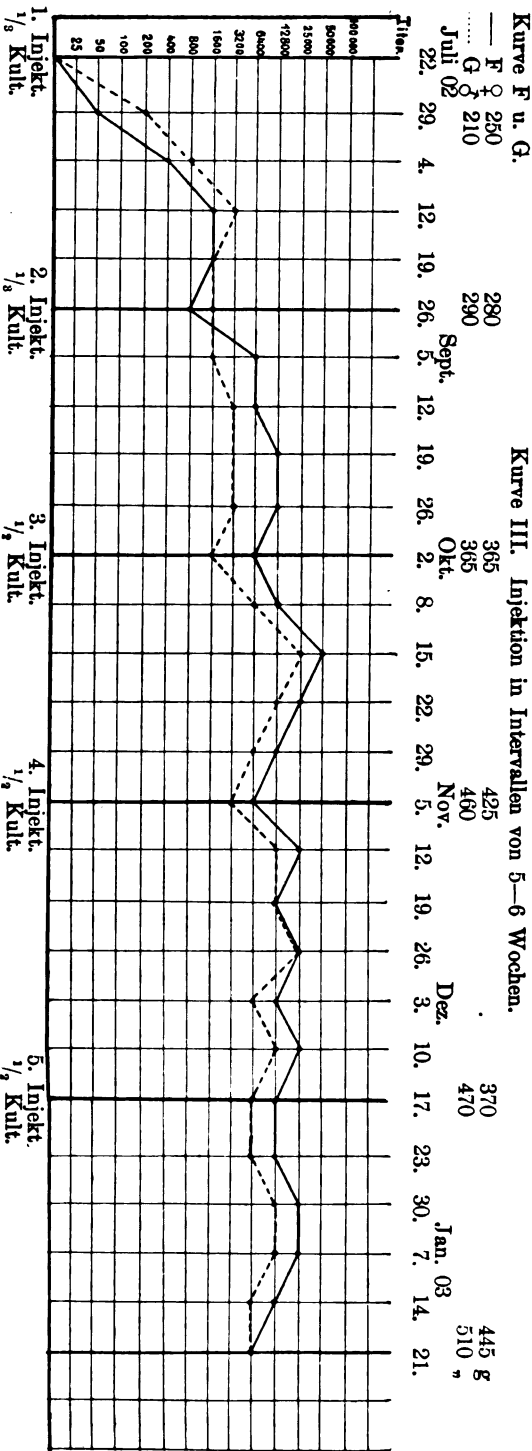


1) Wir werden Gelegenheit haben, später auf diese beiden Befunde zurückzukommen bei Besprechung der Umstände, die, abgesehen von den Injektionen, imstande sind, die Höhe der bestimmten Werte, wenn auch nur in geringem Maße, zu beeinflussen.

2) Hier mögen auch kurz die Daten Platz finden, die ich durch Untersuchungen an einer Ziege und einer Kuh gewonnen hatte. Die Versuche selbst mußten leider aus äußeren Gründen vorzeitig abgebrochen werden. Die Kuh zeigte schon normaliter in ihrem Blute agglutinierende Kraft im Werte von 1:25 (was ich bei Meerschweinchen, wie ich früher bemerkt habe, nie konstatieren konnte).

Die Kuh hatte an Injektionsmaterial erhalten: am 21. Jan. 1903 2 Kulturen, am 26. Jan. 2 Kulturen, am 3. Febr. 3 Kulturen und zeigte am 21. Jan. 1903 (normaliter) 1:25, 26. Jan. 1:50, 2. Febr. 1:800, 9. Febr. 1:1600.

Die Ziege war geimpft worden am 19. Jan. 1903 mit $\frac{1}{5}$ Kultur, 26. Jan. $\frac{1}{5}$ Kultur, 3. Febr. $\frac{1}{5}$ Kulturen und zeigte am 21. Jan. 1:25 negat., 26. Jan. 1:1600, 2. Febr. 1:6400.



sofort die biologische Reaktion einsetzt. Bei den Tieren, die mit $\frac{1}{80}$ resp. $\frac{1}{60}$ Anfangskultur behandelt worden waren, konnte kaum ein verändertes Verhalten in ihrem körperlichen Wohlbefinden und auch keine Gewichtsabnahme bemerkt werden, auch trat niemals Abort ein. Bei der Injektion von $\frac{1}{8}$ Kultur, wie ich sie bei meinen ersten Versuchen vornahm, antworteten die Tiere meist mit einem Gewichtsverlust von 5—20 g, mit Fehlgeburt oder blieben steril, so daß sie zu meinen Untersuchungen nicht mehr weiter verwendet werden konnten. Auf die körperliche Schädigung ist es wohl zurückzuführen, daß zum Teil andere Untersucher verhältnismäßig nur geringe Werte erreichten, wobei sie ganze bis vielfache von ganzen Kulturen zur Injektion verwendeten. Auch stimmen obige Befunde mit der bekannten klinischen Tatsache überein, daß die Höhe der Agglutinationskraft des Blutes beim Menschen in keinem direkten Verhältnis zur Schwere des überstandenen Typhus (d. h. der Menge der Bakterien und deren Toxine) steht.

Um einigermaßen ein Bild von den im tierischen Organismus auf eine Bakterieninfektion hin sich abspielenden Vorgänge zu gewinnen, verfolgte ich nun die Agglutinationskurve bei 2 Paralleltieren in der Weise, daß ich auf jede Injektion hin vorerst die darauf sich einstellende Reaktion ganz ablaufen und nun erst eine neue Injektion nachfolgen ließ.

Kurve III. Injektion in Intervallen von 5—6 Wochen.

— F ♀ 250
 G ♂ 210
 Juli 02

280
 290
 Sept.

365
 365
 Okt.

425
 460
 Nov.

370
 470
 Dez.

445 g
 510 "

Jan. 03
 7. 14. 21.

Daraus ergibt sich, daß nach der ersten Injektion zuerst ein rasches, potentiales Ansteigen erfolgt, der Höhepunkt ungefähr nach der 3. bis 4. Woche erreicht wird und hierauf ein Sinken eintritt. Nach erneuter Injektion steigt die Kurve wieder, erreicht oder übersteigt den früheren höchsten Wert, um wieder von der 4. Woche an abzufallen. Der absolut höchste Wert wurde bei den beiden Versuchstieren nach der 3. Injektion erreicht. Bei Injektion in Intervallen von je 5 Wochen kann der Agglutiningehalt des Blutes ziemlich auf konstanter Höhe erhalten werden.

Ein ganz ähnliches Bild des Ansteigens zeigen die Tiere R und S, die mit rasch steigenden Dosen „immunisiert“ worden waren. Die Kurve erreicht ihren Höhepunkt 1 Woche nach der letzten (4. Injektion) und fängt nach Aussetzen weiterer Einverleibung von Bakterien-substanzen zu fallen an (s. Kurve IV u. V.)

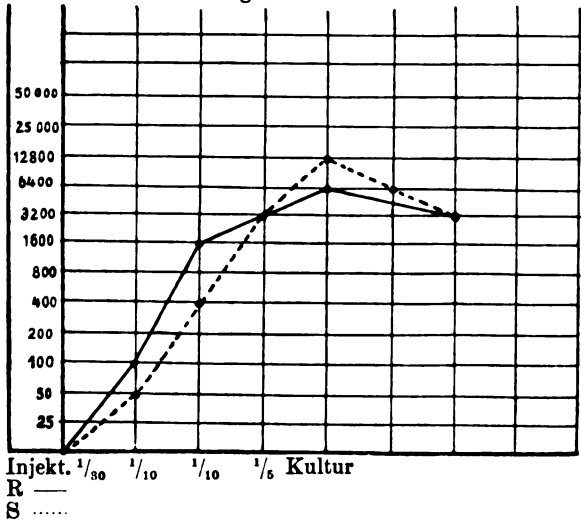
Hier fanden die Injektionen in regelmäßigen Intervallen von 1 Woche statt. Wir erkennen ein kontinuierliches Ansteigen der Kurve bis zur maximalen Höhe überhaupt, welche nach der 4. resp. 5. Woche erreicht ist. Von da hält sie sich ziemlich konstant auf derselben Höhe.

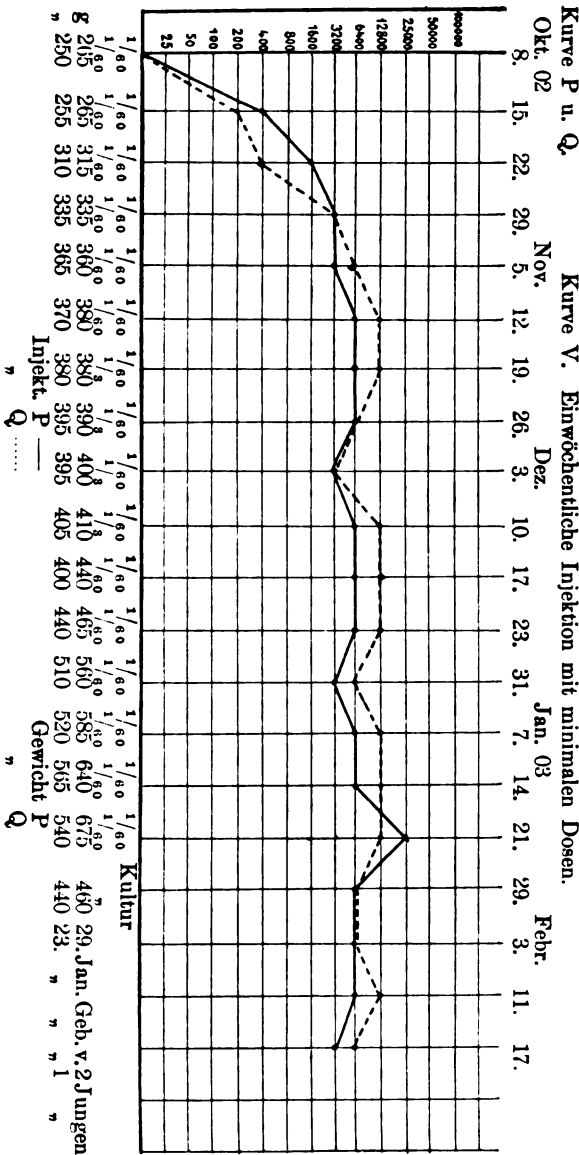
Nur Tier P zeigt vom 14. auf den 21. Jan. einen auffälligen Kurvenberg, der eine Differenz, wie sie allenfalls innerhalb der experimentellen Fehler liegen kann, weit übersteigt. Es handelt sich um eine jener auch bei anderen Tieren ohne erneute Injektion beobachteten plötzlichen Erhebungen, die später noch besprochen werden sollen. Ich benutzte diese beiden Tiere, die so auffallend ähnlichen Kurvenverlauf zeigten, um die früher erwähnte Tatsache zu illustrieren, daß die Agglutininbildung in keiner direkten Beziehung zur Menge der einverleibten Bakterien steht. Man kann bei einem bestimmten Tiere schon mit sehr kleinen Mengen einen maximalen Wert erreichen, der auch bei Vermehrung der Injektionsdosen nicht mehr überschritten wird. Nachdem am 12. Nov. 1902 beide Tiere ihre höchsten Werte erreicht hatten, erhielt Tier Q am 19., 26. Nov., 3. und 10. Dez. je die 20-fache Quantität der früher verwendeten und während dieser Zeit auch weiterhin Tier P zugeführten Menge. Die beiden Kurven blieben auch fernerhin parallel.

Nach den zwei ausführlich wiedergegebenen und nach den zahlreichen übrigen Kurven, die ich des Raum-mangels wegen hier ausschließen mußte, komme ich zum

Kurve R u. S.

Kurve IV. Einwöchentliche Injektionen mit rasch steigenden Dosen.





Schlusse, daß die beim Meerschweinchen zu erreichenden höchsten Werte zwischen 1:12000 und 1:25000 verlaufen und daß es nicht schwer hält, die Wertigkeit ziemlich auf derselben Höhe zu erhalten. Ausnahmsweise wurde auch der Titer 1:50000 erreicht. In einem Falle agglutinierte das betreffende Serum sogar noch in einer Verdünnung von 1:80000.

Eine weitere Frage, die öfters schon erörtert worden ist, ist die, ob die Agglutinine als direkte Antikörper von Substanzen, die mit dem Bakterienmaterial einverleibt werden, aufzufassen sind, d. h. ob diese Substanzen durch schon vorhandene Agglutinine gebunden werden, z. B. wie die Toxine durch die Antitoxine. In dieser Beziehung hat schon Salimbeni konstatiert, daß die Agglutination, wenigstens insoweit es die Choleravibrionen betrifft, ein Phänomen ist, welches ausschließlich außerhalb des Organismus auftritt. Später

zeigte Ba il, daß Bakterien, die einige Stunden im Tierkörper gelebt haben, überhaupt nicht mehr oder höchstens nur in rudimentärer Weise agglutiniert werden können. Er erklärte diese Erscheinung auf Grund der Besetzung der Typhusbakterien durch die von ihm angenommenen „Agglutinophoren“. Die Unfähigkeit der Exsudatbakterien, agglutiniert zu werden, konnte auch bei unseren Untersuchungen bestätigt werden. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: Meerschweinchen 1 z. B. wurde morgens 10 Uhr mit einer lebenden Agarkultur intraperitoneal geimpft, die von einem Serum B in der Verdünnung von 1:1000 noch agglutiniert wurde. Abends 7 Uhr wurde vermittelt einer Pravazschen Spritze aus der

Peritonealhöhle Exsudat aspiriert. Dieses war ziemlich dickflüssig, trübe, mit mäßiger Menge von Leukocyten und einer großen Zahl von vollständig unbeweglichen Typhusbakterien. Von letzteren wurde 1 Oese auf sterile Bouillon abgeimpft, ein anderer Teil wurde zur Agglutinationsbestimmung verwandt. Hierfür diente das gleiche Serum B, daß den Stamm, der den Tierkörper nicht passiert hatte, wie erwähnt, noch in starker Verdünnung agglutiniert hatte. Keinerlei typische Häufchenbildung ließ sich konstatieren. Die abgeimpfte Bouillonkultur wurde am nächsten Morgen um 11 Uhr ebenfalls mit dem Serum B geprüft. Es zeigte sich der Wert 1:50, um 3 Uhr nachmittags der Wert 1:200. Hand in Hand mit der steigenden Agglutinierbarkeit trat auch die Beweglichkeit der Mikroorganismen wieder auf. Es zeigte sich also, daß die während einiger Zeit im Tierkörper gezüchteten Typhusbakterien unbeweglich und nicht agglutinierbar sind, und daß sie, auf künstlichen Nährboden überimpft, nur allmählich die Beweglichkeit und Agglutinierbarkeit wieder erlangen.

Es wäre immerhin denkbar, daß die in vitro die Agglutination bedingenden Körper innerhalb des Organismus doch in irgend einer Weise von dem Bakterienplasma gebunden würden, ohne daß eine sichtbare Agglutination zu stande kommen müßte. Wäre diese Annahme richtig, so dürfte in erster Linie ein Fallen des Agglutinationswertes zur Zeit der Resorption, d. h. am 1. und 2. Tage nach der Injektion erwartet werden. Zur Prüfung dieser Verhältnisse benützte ich die beiden Tiere P und Q, die so auffallend ähnlichen Kurvenverlauf zeigten. Beide Tiere hatten bis und mit dem 12. Nov. allwöchentlich $\frac{1}{60}$ Kultur, im ganzen $\frac{1}{12}$ Kultur erhalten. Am 19. Nov. ließ ich insofern eine Aenderung eintreten, als ich Tier Q nun während 4 Wochen je $\frac{1}{8}$ Kultur injizierte (mit einer einzigen Injektion also das 4-fache der Menge, die es überhaupt während der ganzen Behandlungsdauer bis dahin empfangen hatte). Ich erwartete, daß der annähernd kongruente Verlauf der beiden Kurven gestört werden würde. Nichts derartiges trat aber ein. Auch ein abnormes Sinken gerade an den auf die Injektionen folgenden Tagen konnte nicht konstatiert werden. Ebenso konnte ich bei den übrigen Tieren ein Sinken des Agglutinationswertes direkt nach den Injektionen nicht konstatieren. Es ließ sich also für die Agglutinine die „Wellenbewegung der Kurve“ wie dies für die Antitoxine nach Injektionen mit Toxinen zuerst von Brieger und Ehrlich, dann von Salomonsen und Madsen, Forssmann und Lundström u. a. gefunden worden war, nicht nachweisen. Der tiefe Stand am 3. Dez., der von beiden Kurven P und Q befolgt wird, gehört wohl zu den nun zu besprechenden accidentellen Schwankungen.

Bei Vergleich der verschiedenen Kurven, von denen ich hier des Raum mangels wegen nur 2 ausführlich wiedergeben konnte, fallen Schwankungen auf, die nicht erklärt werden können mit etwa stattgehabten Injektionen. So zeigen z. B. sämtliche untersuchte Tiere am 15. Okt. ein auffälliges Ansteigen. Die eher hohen Werte der Tiere P und Q nach der 1. Woche dürften von der Seite her eine leichte Korrektur erfahren. Andererseits zeigten alle Tiere am 3. Dez. einen niedrigeren Wert, als erwartet werden konnte. Diese Schwankungen können nur so erklärt werden, daß der bei allen Tieren verwendete Indikator etwas leichter oder schwerer agglutinierbar war, als gewöhnlich. Es ist von verschiedenen Seiten darauf hingewiesen worden, daß Beweglichkeit der Bakterien und Agglutinierbarkeit in einer

gewissen Beziehung zueinander stehen und auch an dieser Stelle ist bereits bei Erwähnung der Nichtagglutinierbarkeit der im Tierkörper weitergezüchteten Typhusbakterien ein Beispiel hierfür gegeben worden. Daß durch Hitze oder Formol abgetötete und dadurch unbeweglich gewordene Typhusbakterien dennoch agglutiniert werden, ist selbstverständlich kein Gegenbeweis, da es sich hierbei nur um eine sekundäre Aufhebung einer bereits bestandenen Funktionsfähigkeit handelt.

Dineur (zit. aus Defalle) wies darauf hin, welche wichtige Rolle die Cilienhülle bei dem Agglutinationsphänomen spielt. Defalle betrachtet die Agglutinine als Produkte, die im Organismus gebildet würden infolge der Resorption der mikrobischen Hüllen, je reichlicher letztere entwickelt ist, um so reichlicher ist die Produktion der Agglutinine und um so empfindlicher wird auch der Mikrobe selbst gegenüber letzteren sein. Gleichzeitig mit Defalle veröffentlichten Nicolle und Frenel die Resultate ähnlicher Untersuchungen. Sie kamen zum Schlusse, daß nur bewegliche Mikroben einer eigentlichen Empfindlichkeit gegenüber der Einwirkung der Agglutinine unterworfen, daß nur sie agglutininbildend seien. Die beweglichen Mikroben verdanken das Vermögen ihrer agglutinierenden und agglutininbildenden Eigenschaften der Entwicklung des Cilienmantels. Auch Beljaeff kommt in Bestätigung der Resultate von Nicolle und Frenel zu dem Satze, daß im Agglutinationsprozeß der Typhusbacillen eine wichtige Rolle den Geißeln zuzuschreiben sei.

Was nun den Einfluß dieser Abhängigkeit der Agglutinierbarkeit der Bakterien von dessen Beweglichkeit auf die Genauigkeit der Resultate meiner Untersuchungen betrifft, so gelang es mir durch gleichzeitiges Anlegen mehrerer Kulturen von stets der gleichen Stammkultur nach stets derselben Methode und bei gleicher Temperatur immer genügend bewegliche Bakterien zu erhalten. Immerhin dürften Schwankungen, die sich in einer Untersuchungsreihe bei allen Tieren zeigten, auf obigen Umstand zurückzuführen sein, wobei nach meinen Erfahrungen als Maximum dieser experimentellen Fehler eine Verdünnungsstufe, in der Kurve also eine Horizontalstufe angenommen werden dürfte.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Le procédé de Cambier pour la recherche du bacille typhique.

Par le Dr. Léon Jacqué,

Assistant à l'Institut de sérothérapie de Bruxelles.

Dans un article très intéressant Bienstock¹⁾ expose la façon dont est organisée à Paris la lutte contre la fièvre typhoïde. L'auteur y dit notamment que les eaux de la distribution sont analysées, au point de vue de présence du bacille d'Eberth, au moyen d'un procédé inventé par Cambier de l'institut de Montsouris.

La simplicité de la méthode proposée par Cambier²⁾ la rend très

1) Bienstock, Hyg. Rundschau. 1903. No. 3. p. 105. — Voir aussi: Compte rendu dans Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 112 (Rullmann).

2) Cambier, Compt. rend. de l'acad. d. sc. T. CXXXII. p. 1442 et T. CXXXIII.

alléchante. Nous sommes malheureusement forcés de déclarer qu'elle n'a pas donné, entre nos mains, de résultats satisfaisants.

En deux mots, dans une eau peptonée de composition déterminée, „le Bact. typhi végéterait bien et serait très mobile, tandis que les coli-bacilles s'y trouveraient contrariés, à la fois dans leur développement et dans leur mobilité“¹⁾. Tel est le principe de la méthode.

Pour réaliser l'isolement du Bact. typhi, Cambier opère comme suit: Dans un tube à réaction dans lequel plonge une petite bougie Chamberland marque F, il verse de l'eau peptonée; puis il ensemece l'intérieur de la bougie avec le matériel à analyser. Dans le liquide extérieur apparaîtrait toujours, après un séjour plus ou moins prolongé à 37°, le Bact. typhi en culture pure, lorsqu'on aensemencé la bougie avec un mélange constitué de proportions égales de cultures de vingt quatre heures sur bouillon de Bact. typhi et de coli commune. Lorsque l'analyse porte sur de l'eau, des germes très mobiles peuvent traverser le filtre en même temps que le Bact. typhi, ce qui ne rend pas le diagnostic de ce dernier plus difficile, l'aspect des colonies étant très différent sur les plaques de Conradi-Drigalski. — Le résultat serait encore positif avec des mélanges „contenant le bacille d'Eberth introduit en très minime quantité dans une eau de source ou de rivière et même dans un milieu polymicrobien infiniment plus complexe, tel que l'eau d'égoût, les selles d'individus biens portants ou malades“ (l. c. p. 64—65).

Nous renvoyons à l'original et à l'article de Bienstock pour ce qui concerne la composition et la préparation du milieu de culture. Bornons-nous à remarquer que nous avons fait nos expériences avec les bougies et la peptone (Defresne) recommandés par l'auteur; que toutes nos recherches ont été faites en double: d'une part avec le milieu primitivement indiqué par l'auteur²⁾, d'autre part avec des concentrations plus faibles de soude et de chlorure sodique³⁾.

Examinons d'abord le principe de la méthode. Dans l'eau peptonée de composition donnée, „le Bact. typhi végéterait bien, ... tandis que les coli-bacilles s'y trouveraient contrariés, dans leur développement“. — Or, si nous ensemençons une série de tubes d'eau peptonée, la moitié avec du coli, l'autre moitié avec du Bact. typhi, nous constatons qu'après vingt-quatre heures à 37° (et les résultats restent les mêmes après un temps plus long) toutes les cultures de coli sont — pour les milieux de même composition — très notablement plus troubles que les cultures correspondantes de Bact. typhi.

Quant à la mobilité (les germes ensemencés avaient été reconnus préalablement doués d'une bonne mobilité) on observe, pour le Bact. typhi, que cette propriété a considérablement déchu et ce d'autant plus que le milieu est plus concentré; le coli-bacille est également devenu moins mobile. Toutefois, en goutte suspendue, les cultures des deux espèces microbiennes montrent une mobilité sensiblement équivalente.

Ensemençons des bougies avec des quantités égales de bouillons de vingt-quatre heures de Bact. typhi et de coli. — Le tableau

p. 1226. — Rev. d'hyg. 1902. No. 1. p. 64. — Voir aussi: Compte rendu dans Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 101 (Rabinowitsch).

1) Cambier, Rev. d'hyg. (l. c.) p. 66.

2) Cambier, Rev. d'hyg. (l. c.) p. 66.

3) Bienstock, Hyg. Rundsch. (l. c.).

renseigne les résultats obtenus. Il suffit d'y jeter un coup d'œil pour être convaincu de ce que les résultats font d'incertain.

No. de l'expérience	No. de l'appareil	Ensemencement	Temps après lequel le liquide extérieur est infecté	Nature des germes qui ont traversé la bougie
I	1	T.b.; C.a. ¹⁾	56 h.	Coli culture pure
I	2	do.	30 "	do.
I	3	do.	40 "	do.
I	4	do.	48 "	do.
I	5	do.	46 "	do.
II	—	T.b.; C.b.	60 "	Typh. et coli (en majorité)
III	1	T.a.; C.a.	56 "	Coli et quelques typh.
III	2	do.	56 "	" " "
III	3	do.	24 "	" " très rares "
IV	1	T.a.; C.c.	70 "	Typh. culture pure
IV	2	do.	70 "	et quelques coli
IV	3	do.	70 "	Coli culture pure
V	1	T.c.; C.a.	45 "	do.
V	2	T.a.; C.b.	} rien après 9 jours	
V	3	T.a.; C.a.		
VI	—	T.b.; C.c.	53 h.	Typh. culture pure
VII	1	T.b.; C.a.	20 "	Coli " "
VII	2	do.	23 "	" " "
VIII	—	T.a.; C.c.	80 "	Typh. " "

1) Abréviations:

T.a. = Bact. typhi très mobile

T.b. = " " mobile

T.c. = " " peu mobile

C.a. = Bact. coli très mobile

C.b. = " " peu "

C.c. = " " " "

On verra d'abord que plusieurs appareils, traités absolument de la même façon, donnent parfois des résultats totalement disparates, aussi bien quant au temps que prennent les germes pour traverser le filtre que quant à la nature de ces germes. Ces différences dans le temps ne peuvent, semble-t-il, s'expliquer que par des variations dans la perméabilité des bougies; et le fait que lors du remplissage d'aucunes absorbent beaucoup plus vite l'eau peptonée épanchée à leur face extérieure paraît plaider en faveur d'une telle interprétation. Pour ce qui est de la cause du passage de germes différents dans des expériences en tous points semblables, nous y reviendrons plus tard.

On constate d'autre part que la mobilité primitive des germes (car nous avons vu ce qu'elle devient dans le milieu Cambier) n'a pas d'influence décisive sur le résultat de l'expérience. Dans l'expérience IV No. 3, par ex., l'ensemencement de Bact. typhi très mobile et de Bact. coli peu mobile donne une culture pure de coli, etc. Des cultures de contrôle, sur gélose Conradi-Drigalski, faites aux dépens du contenu des bougies, donnent dans tous les cas un nombre de colonies typhiques énormément inférieur à celui des colonies de Bact. coli, nouvel argument qui plaide contre l'action défavorable que ce milieu exercerait sur le développement du coli.

S'il faut admettre, comme le veut Cambier, que c'est le microbe le plus mobile qui traverse le premier la bougie, comment expliquer que si souvent le coli — que le milieu est sensé rendre immobile — passe néanmoins le premier; que dans d'autres cas (voir plus loin) ce sont des coques qui arrivent les premiers à la face extérieure du filtre?

Quelques essais furent également tentés avec des selles de malades atteints de fièvre typhoïde. Dans 14 expériences, le *Coli commune* apparaît 6 fois en culture pure; dans l'une d'elles on obtient un mélange de *Coli commune* et de *Coli alcaligenes*; dans une autre une culture pure de ce dernier; 4 fois une culture pure de staphylocoques; 2 fois enfin le milieu extérieur est stérile après 6 jours. Le passage de germes s'est effectué en 36 h. au minimum, 4 fois après 5 jours seulement. Notons que dans 6 de ces expériences l'examen direct des selles sur gélose Conradi-Drigalski avait permis de déceler la présence de *Bact. typhi*.

Les coques nous apparaissent ici comme un nouvel ennemi. Leur présence empêche, dans certains cas, l'apparition dans le liquide extérieur des microbes ordinaires de la flore intestinale.

Comment expliquer que dans la plupart des expériences relatées dans ce travail, des appareils identiques entre eux et traités de la même façon, donnent des résultats si différents? — Il se pourrait que le germe qui, pour une cause inconnue, s'adapte le premier au nouveau milieu, tapisse en quelque sorte la surface interne de la bougie, en bouche les pores excluant ainsi les autres germes, en partie mécaniquement, en partie en exerçant sur eux une action chimiotaxique négative, double action aboutissant à l'apparition de ce premier microbe à la surface extérieure du filtre. Cette interprétation paraît confirmée par le fait que lorsque ce sont des coques (immobiles) qui ont joué ce rôle, le milieu extérieur tarde beaucoup plus longtemps à se troubler que dans le cas où des bactéries (qui conservent une certaine mobilité) sont victorieuses.

Disons en terminant que si même les expériences relatées au précédent tableau avaient conduit à un résultat favorable, il ne serait pas encore permis de porter un jugement sur la valeur pratique de la méthode. En effet elles reproduisent des circonstances exceptionnellement favorables, telles qu'il ne s'en rencontre pas dans la pratique; et si cela était le cas, il suffirait d'ensemencer directement sur gélose Conradi-Drigalski, pour arriver à un résultat plus certain et plus rapide.

Biffi¹⁾ trouva la méthode de Cambier insuffisante, et proposa l'agglutination par un coli-sérum polyvalent. Lesieur²⁾ observe le passage des germes après un temps très variable, presque le même d'ailleurs pour le *Bact. typhi* que pour le coli. „Jamais la culture extérieure ne s'est montrée exempte de coli-bacilles“ déclare-t-il notamment.

Enfin Kirsch³⁾ qui obtient des résultats plus favorables que les nôtres, dit toutefois que pour le diagnostic rapide et sûr le procédé de Cambier n'entre pas en ligne de compte.

Il semblerait, vu l'insuccès de tous les procédés semblables, que l'on puisse condamner a priori une méthode dont le principe consiste à vouloir, par des agents chimiques, nuire au *Bact. coli* sans le faire pour le *Bact. typhi*. Cette manière de voir serait infirmée par la note que Roth⁴⁾ a fait paraître sur une action de ce genre exercée par la caféine. Quelques essais préliminaires, faits avec des cultures pures, nous ont donné des résultats pleinement confirmatifs.

1) Biffi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXI. p. 238.

2) Lesieur, Journ. de phys. et de path. génér. T. IV. p. 678.

3) Kirsch, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 41. p. 733.

4) Roth, Hyg. Rundsch. 1903. p. 489. — Voir aussi: Hoffmann u. Ficker, Dtsch. med. Wochenschr. 1904. No. 4. p. 146.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institute zu Hamburg. (Direktor: Prof. Dr. Dunbar.)]

Von Dr. Drag. S. Petkowitzsch.

Für den Typhusbacillus sind zwar bereits eine große Reihe von Nährböden empfohlen, aber in keinem besitzen wir ein derartiges Anreicherungsverfahren, wie wir es in dem Peptonwasser für den Choleraerreger haben. Man hat sich daher mit Mitteln behelfen müssen, die nicht eine Anreicherung bedeuten, sondern nur die Auffindung der vorhandenen Typhuskeime erleichterten. Dazu hat man einmal eine Eingeungung¹⁾ des zu untersuchenden Materials, ferner die Zugabe von Antiseptica²⁾ zu den Nährböden benutzt, als auch sich des Gärvermögens der Begleitbakterien³⁾ und der dadurch hervorgerufenen Farbenreaktion bedient.

Seit längerer Zeit hat man besonders dadurch die Typhusdiagnose erleichtern zu können geglaubt, daß man neben der Wachstumshemmung der einer leichten Erkennung der Typhusbacillen hinderlichen Bakterien die milchzuckerspaltenden durch einen besonderen Indikator kenntlich machte.

Dieser Idee verdankte auch der von v. Drigalski und Conradi angegebene, sowie der neuerdings von Endo empfohlene Nährboden seine Entstehung. Bei ersterem dient Lackmuslösung als Indikator für die Säurebildung, bei letzterem wird zu gleichem Zwecke Fuchsin dem Nährboden zugesetzt.

Der Zusatz eines solchen Indikators zum Nährboden ist keineswegs neu, sondern datiert schon recht weit zurück. So hat bereits im Jahre 1887 D'Abundo⁴⁾ Fuchsin, Methylenblau und Bismarckbraun dem Nährboden zugesetzt. Für Typhuskulturen speziell hat wohl zuerst Noeggerath⁵⁾ die farbigen Nährböden verwendet. Sodann hat Gasser⁶⁾ den Fuchsinagar vorgeschlagen, den die Typhuskolonien entfärben, während sie selbst rot gefärbt erscheinen. Raymond⁷⁾ färbte 4-proz. Milchzuckeragar mit saurem Fuchsin und entfärbte ihn mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung. Die Typhuskolonien erscheinen auf dem Nährboden ganz farblos, während die Coli-Kolonien rot hervortreten. Auch die Lackmüstinktur wurde schon vielfach als Indikator vorgeschlagen. Wurz⁸⁾ setzte dieselbe zu einer 2-proz. Milchzuckergelatine

1) Präzipitationsverfahren nach Schüder und Filtrationsverfahren nach Chantemesse (Sem. méd. 1901. p. 186), nach Cambier (Compt. rend. soc. de biol. 1901. No. 23. p. 1442), Klein (23 ann. Rep. Loc. Gov. Board. Suppl. p. 47. London 1893 94).

2) Karbolsäurezugabe nach Chantemesse und Widal (Gaz. des hôp. T. CCII. 1887), Kruse (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 44) und Lösener (Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. 1895. p. 207).

3) Verschiedene zuckerhaltige und gefärbte Nährböden, von denen später die Rede sein wird.

4) La Riforma medica. 1887.

5) Fortschr. d. Med. Bd. VI. 1888. p. 1.

6) Arch. de méd. expér. T. II. 1890. p. 780.

7) Soc. de biol. 1896. No. 28.

8) Arch. de méd. expér. T. IV. 1892. p. 85.

oder -Agar hinzu. Kashida¹⁾ benutzt die Eigenschaften des *Bacterium coli* Milchzucker und Harnstoff zu vergären. Die dem Nährboden zugesetzte Lackmuslösung zeigt dann zuerst die saure und nachher die alkalische Reaktion der *Coli*-Kultur an, während die Typhuskultur unverändert bleibt. Endlich wurde auch eine Reihe anderer Farbstoffe hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit für die Typhusdiagnose untersucht. So hat Rothberger²⁾ zahlreiche Anilin- und andere Farbstoffe geprüft, wie das Neutralrot, Toluylenrot, Saffranin, Methylengrün, Malachitgrün etc. Robin³⁾ vermischte Bouillon und Agar mit Methylenblau. Phenolphthalein wurde als Indikator in flüssigen Nährböden verwandt von Abba⁴⁾, Graziani⁵⁾ Merrieux und Carré⁶⁾. Fluorescein wurde eingeführt von Graziani⁷⁾ und Gautié⁸⁾. Auch Artischocken wurden von Roger⁹⁾ und ihr Dekokt in den Nährböden von G. Roux¹⁰⁾ benutzt. Die *Coli*-Kolonieen sind auf diesem Nährboden gelblich und die Typhuskolonieen farblos.

v. Drigalski und Conradi benutzten zu dem von ihnen angegebenen Agarnährboden außer Lackmuslösung und Milchzucker noch Nutrose und Kristallviolett. Die Nutrose sollte den Nährwert des Nährbodens erhöhen und damit das Typhuswachstum befördern. Das Kristallviolett soll Luftkeime und andere saprophytische Mikroorganismen in ihrem Wachstum hintanhaltend.

Der v. Drigalski-Conradische¹¹⁾ Lackmusagarnährboden besteht also aus:

- 2 l Fleischwasser (3 Pfd. Rindfleisch auf 2 l Wasser),
- 20 g (1 Proz.) Pepton siccum Witte,
- 20 g (1 Proz.) Nutrose,
- 10 g (0,5 Proz.) Kochsalz,
- 60 g (3,0 Proz.) Agar,
- 260 ccm (23 Proz.) Lackmuslösung (nach Kubel und Tiemann),
- 30 g (1,5 Proz.) Milchzucker,
- 4,0 ccm 10-proz. Sodalösung nach schwachem Alkalisieren (Indikator: Lackmuspapier),
- 20,0 ccm 0,1-proz. Kristallviolettlösung (0,01 Proz.).

Die Alkaleszenz dieses Nährbodens soll wenigstens ca. 0,04 Proz. reiner Soda betragen. Aber die Autoren selbst geben an, daß diese sich vermindern kann durch die Zersetzung des Milchzuckers bei längerem Aufbewahren oder Kochen.

Die *Coli*-Kolonieen sollen auf diesem Nährboden nach 14—16-stündigem Verweilen bei 37° leuchtend rot und undurchsichtig sein, die Typhuskolonieen blau (oder violett), glasig, nicht doppelt konturiert und taupfropfenähnlich. Alle anderen Kolonieen sollen sich mehr oder weniger von diesem Typus unterscheiden, und wenn man noch im Zweifel sein

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 1897. p. 802.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 513.

3) Soc. de biol. T. I. 1897. p. 26.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896. p. 13.

5) Arch. de méd. expér. T. IX. 1897. p. 98.

6) Lyon méd. T. IX. 1898.

7) l. c.

8) Contribution à l'étude sur la différ. et la recherche du *B. typh.* et du *B. colon.* [Thèse.] Toulouse 1899.

9) Soc. de biol. 1898. Mars 16.

10) Compt. rend. de l'Acad. de sciences. 1899. p. 697. Mars 17.

11) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX.

sollte, so kann die sofortige Deckglasagglutination die Entscheidung bringen. Zur endgültigen Diagnose benutzt man neben der sofortigen Deckglasagglutination noch Abimpfung auf gewöhnlichen Agar, auf den Rothbergerschen Neutralrotagar und die makroskopische Reagenzglasagglutination. Wenn man alles genau befolgt, soll es gelingen, spätestens nach 24 Stunden vorhandene Typhusbacillen nachzuweisen. Die Stühle sollen möglichst frisch und bei negativem Befunde mehrmals untersucht werden. Der Fuchsinagar nach Endo¹⁾ unterscheidet sich im wesentlichen von dem Lackmusagar dadurch, daß er keine Nutrose enthält und daß statt der Lackmuslösung eine durch Natriumsulfit reduzierte Fuchsinlösung hinzugefügt wird. Er besteht also aus:

- 1000 ccm neutralem Agar (3 Proz.),
- 10 g (1 Proz.) Milchzucker,
- 5 ccm (0,5 Proz.) alkoholische Fuchsinlösung,
- 25 ccm (2,5 Proz.) 10-proz. Natriumsulfitlösung und
- 10 ccm (1 Proz.) 10-proz. Sodalösung.

Die Alkaleszenz, welche hier nicht definitiv angegeben wurde, soll mindestens 0,10 Proz. betragen. Gewöhnlich aber beträgt sie 0,1—0,15 Proz. reine Soda, titriert mit Lackmuspapier als Indikator.

Die Aussaat des Materials geschieht nach dem Verfahren von v. Drigalski und Conradi. Die Platten sind farblos geworden durch die reduzierende Wirkung des Natriumsulfits und sollen nach der Aussaat die Coli-Kolonien durch die Säurebildung mit roter Farbe vertragen. Alle Typhuskolonien sind ganz farblos, die Coli-Kolonien sind schon nach 15 resp. 24 Stunden schön rot.

Bei dem Lackmusagar ist ein bestimmter Gehalt an Agar und eine bestimmte Alkaleszenz erforderlich, damit verhindert wird, daß durch das Wachstum der säurebildenden Coli-Kolonien die Farbe allzu schnell in die Umgebung diffundiert und dadurch die Erkennung etwaiger Typhuskolonien erschwert bzw. unmöglich gemacht wird. Andererseits sind aber die Verhinderung der Farbdiffusion und die schnelle Erkennung der Coli-Kolonien auf dem Lackmusagar zwei Forderungen, die einander bis zu einem gewissen Grade ausschließen, weil je höher die Alkaleszenz des Nährbodens ist, desto intensiver die Säureproduktion sein muß, um in demselben Zeitraume die rote Farbe der Coli-Kolonien zum Vorschein zu bringen. Es gibt nun die verschiedensten Arten von Coli-Bakterien, welche geradezu in Abstufungen verschieden intensiv den Milchzucker vergären und deswegen auch in Kolonien nach verschieden langer Zeit die rote Farbe aufweisen. Für die Diagnose ist es jedoch von Wichtigkeit, daß möglichst schnell die Coli-Bakterien sich als solche dokumentieren. Es sollte also der Nährboden stets die entsprechende Menge von Alkali enthalten und vor Gebrauch auf seine Alkaleszenz titrimetrisch geprüft werden.

Mögen nun aber auch auf diesem vorschriftsmäßig hergestellten Nährboden die eigentlichen Coli-Bakterien sich hinreichend schnell und deutlich sichtbar machen, und ferner die in Stühlen ebenfalls vorkommenden alkalibildenden und reaktionslos wachsenden Mikroben in nennenswerter Weise das Suchen nach den Typhuskolonien nicht beeinträchtigen, mag also der Lackmusagar bei der Untersuchung von Stuhlproben von unverkennbarem Vorzug für die Beschleunigung und Sicherheit der Diagnose sein, so läßt uns doch dieser Nährboden manchmal im Stich,

1) Centralbl. f. Bakt. etc.

wenn es gilt, in Wässern und insbesondere in Schmutzwässern den Typhusbacillus nachzuweisen. Hier finden sich oft, man kann sagen alle Uebergänge von einem typischen Coli-Bakterium bis zu dem typhusähnlichsten Paracoli. In solchen Fällen wird, unbeschadet der vorherigen Anwendung des Schüderschen Verfahrens oder der Koffeinkultur nach Roth, Hoffmann und Ficker, von dem oben erwähnten Fuchsinagar ein Nutzen zu erwarten sein.

Der Vorzug dieses Nährbodens gegenüber dem Lackmusagar soll nämlich darin liegen, daß der Fuchsinährboden durchsichtig ist, also eine mikroskopische Betrachtung gestattet, sodann darin, daß auf diesem auch eine Reihe Bakterien, die auf dem Lackmusagar nicht ohne weiteres von Typhuskolonien unterschieden werden können, sich durch eine Rotfärbung des Nährbodens differenzieren.

Wie bei den Lackmusagarnährböden wird auch bei den Fuchsinagarnährböden die differentialdiagnostische Reaktion durch Säurebildung der milchzuckervergärenden Bakterien bewirkt. Es geht jedoch diese Farbenreaktion nicht gleichen Schrittes mit der des oben erwähnten Lackmusagars. Das ist auch nicht verwunderlich: Der Fuchsinährboden ist durch Reduktion mittels Natriumsulfit schwach alkalisch und farblos gemacht, es ist daher a priori nicht anzunehmen, daß die rote Farbe nur durch die von Bakterien gebildete Säure wieder hergestellt wird. Vielmehr wird dieselbe auch z. B. durch eine Oxydation erzielt.

Läßt man den Nährboden einige Zeit bei Tageslicht stehen, so färbt sich derselbe ohne Zutun von Bakterien mehr und mehr rot. Erwärmt man einige Kubikcentimeter dieses Fuchsinagars in einem Reagenzglase, so nimmt er die rote Farbe an, die bei dem Erkalten wieder verschwindet. Bringt man den Fuchsinagar einige Zeit in Berührung mit Terpentinöl (also einem oxydierenden Körper), so tritt ebenfalls und zwar schneller bei gleichzeitigem Erwärmen die schöne und bleibende rote Farbe auf.

Es geben daher nicht nur die Coli-Bakterien die rote Farbenreaktion, sondern auch eine ganze Reihe anderer Mikroben, welche nicht wie Coli Säure produzieren und welche auf dem Lackmusagar blaue Kolonien wie Typhus erkennen lassen.

So z. B. wachsen bekanntlich die Choleravibrionen auf dem Lackmusagar in blauen Kolonien, da sie keine Säure bilden. Auf dem Fuchsinagar aber bewirken sie eine deutliche Rotfärbung des Nährmediums, ebenso schnell, wenn auch nicht so intensiv, wie die Coli-Bakterien. In Stichkulturen tritt diese Rotfärbung anfangs nur an der Oberfläche auf und diffundiert dann allmählich in die Tiefe.

Bei dieser Gelegenheit sei hervorgehoben, daß man bei der Kompliziertheit und Unbeständigkeit der Natriumsulfitlösung darauf achten muß, daß der Fuchsinagar ganz entfärbt sein soll, weil sonst bei ungleicher und ungenügender Entfärbung auch der Typhusbacillus in rötlichen Kolonien wächst. Auf dem regelrecht vorbereiteten Fuchsinagar wachsen die Typhusbacillen aber ganz charakteristisch in klaren, hellen und durchsichtigen Kolonien, die nur bei längerer Lichteinwirkung etwas, aber sehr wenig im auffallenden Lichte blaßrosa erscheinen, während sie im durchfallenden Lichte ganz farblos sind, sie verändern den Nährboden gar nicht.

Der Fuchsinährboden setzt uns also in die Lage, auch Bakterien, die auf dem Lackmusagar wie Typhusbacillen blau wachsen, ohne weiteres von Typhusbacillen zu unterscheiden. Plattenkulturen lassen die Unterschiede schneller und deutlicher zu Tage treten, wogegen die Stich-

kulturen die Möglichkeit geben, eine etwaige Gasbildung der fraglichen Bakterien zu erkennen.

Von praktischer Bedeutung ist nun aber weiterhin, daß sich unter den sogenannten „typhusähnlichen Bakterien“, die auf dem Lackmusagar blau wachsen, eine ganze Reihe findet, welche den Fuchsinährboden verändern und sich somit von dem Typhusbacillus unterscheiden lassen.

Hierher gehören die sogenannten Paratyphi bezw. Fleischvergifter, die auch zum Teil nach einiger Zeit den Fuchsinagar nach Art der Coli-Bakterien verändern.

Es wurden Versuche mit einer Reihe von verschiedenen Paratyphusbakterien (16 Stämme) angestellt und dabei zeigte sich, daß alle 16 Stämme auf dem Lackmusagar in blauen Kolonien wuchsen, während auf dem Fuchsinagar einige Stämme schon in derselben Zeit (18 Stunden) von dem Typhuswachstum durch ihre leichte Rosafärbung sich unterschieden (s. Tabelle I). In dem flüssigen Nährboden (ohne Agarzusatz) tritt dieser Unterschied oft noch deutlicher hervor. Allerdings waren nicht immer die Unterschiede zwischen Typhus und Paratyphus gleich deutlich, es spielt der Grad der Reduktion des Nährbodens dabei eine Rolle.

Tabelle I.
Fleischvergifter und sogenannte Paratyphibakterien¹⁾.

Lfd. No.	Bezeichnung der Kultur	Drigalski-Platten		Fuchsinagarplatten		Fuchsin- agar- Reagenz- glas nach 2 Tagen
		nach 18 Stdn.	nach 40 Stdn.	nach 18 Stdn.	nach 40 Stdn.	
1	Bacillus enteritidis (Gärtner)	blau	intensiv blau	rötlich	rötlich	rötlich
2	Bacillus Morsunlensis	„	„	leicht rosa	„	„
3	Haustedter Fleischvergiftung (Fischer)	„	„	rötlich	„	„
4	Bacterium der Hamburger Fleischvergiftung	„	„	„	„	„
5	Breslaviensis Kaensche	„	„	„	„	„
6	Kaensche II	„	„	kaum verändert	„	„
7	Fleischvergiftung Günther	„	„	„	„	„
8	Bacterium Caseolyticum (Lodmann)	„	„	rötlich	„	„
9	Bacterium der Düsseldorfer Fleischvergiftung (Traut- mann)	„	„	leicht rosa	„	„
10	Bacillus moribificans bovis	„	„	„	„	„
11	Schottmüller Paratyphus (Müller) Typ. A	„	„	unverändert	unver- ändert	„
12	Bac. Paratyphi Brion-Kayser	„	„	„	„	„
13	Schottmüller Paratyphus (Seemann) Typ. B	„	„	kaum verändert	rötlich	„
14	Paratyphus Kurth	„	„	„	„	„
15	Bac. Paratyphi Hünemann	„	„	unverändert	unver- ändert	„
16	Bac. typhoides Saarbrücken	„	„	kaum verändert	rötlich	„

1) Die Kulturen sind aufgeführt nach der von H. Trautmann, Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung und die verwandten Bakterien der Paratyphusgruppe (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1903) gegebenen Einteilung.

Es wird so der reduzierte Fuchsinagar im Verein mit dem Lackmusagar uns bei der Unterscheidung der Typhusbakterien von den typhusähnlichen, sowie bei der Unterscheidung letzterer untereinander gute Dienste leisten können. Dafür aber, daß es erwünscht ist, einen Nährboden zu besitzen, der eine ganze Reihe sonst typhusähnlicher Bakterien ohne weiteres als unverdächtig auszuschalten gestattet, mögen folgende bakteriologische Untersuchungen als Beispiel gelten, welche gelegentlich einer Typhusepidemie in der Umgegend von Hamburg im vorigen Jahre angestellt wurden und welche gleichzeitig als Beitrag dienen können zur Frage des Vorkommens und der Verbreitung typhusähnlicher Bakterien.

Es sei nur kurz erwähnt, daß diese Epidemie zurückgeführt werden konnte auf einen fehlerhaften Brunnen, in dem höchst wahrscheinlich mit Infektionsmaterial verunreinigtes Schmutzwasser hineingelangt war. Bei der Untersuchung konnten, wie in der Regel in derartigen Fällen, Typhusbacillen in dem Wasser nicht nachgewiesen werden, dagegen fanden sich Bakterien, die alle Uebergänge von einem typischen Coli-Bakterium bis zum Typhusbacillus aufwiesen, es wurden sogar solche Bakterien isoliert, die sich nur noch durch das Wachstum auf dem Fuchsinagar und negative Agglutination von den Typhusbacillen unterscheiden ließen.

Von den bei dieser Untersuchung isolierten Kolonien ließen sich folgende 4 Gruppen aufstellen:

I. Gruppe: Trauben- und Milchzuckergärung +, Milchgerinnung +, Indol +, Kartoffelkultur bräunlich, Fuchsinagar hellrot: Also alle charakteristischen Coli-Zeichen.

II. Gruppe: a) Milchzucker- und Traubenzuckergärung +; b) Milchzuckergärung +, Traubenzuckergärung —; c) Milchzuckergärung —, Traubenzuckergärung +. Alle 3 Untergruppen gaben auch rote Fuchsinagarkolonien.

III. Gruppe: a) Milchgerinnung +, alle anderen Symptome —, Fuchsinagar unverändert; b) Milchgerinnung +, Indol +, Fuchsinagar rot.

IV. Gruppe: a) Milchzucker- und Traubenzuckergärung —, Milchgerinnung —, Indol —, Kartoffelkultur bräunlich, Fuchsinagar rot oder rötlich; b) Milchzucker- und Traubenzuckergärung —, Milchgerinnung —, Indol —, Kartoffelkultur weißlich; c) Fuchsinagar rötlich oder d) Fuchsinagar unverändert.

Aus dieser Einteilung, die die folgende Tabelle (Tabelle II) übersichtlich veranschaulicht, sieht man, wie man von den echten Coli-Bakterien allmählich zu den Bakterien kommt, welche fast alle negativen Typhuszeichen besitzen, so daß es kulturell fast unmöglich ist, sie von den echten Typhusbacillen zu unterscheiden.

Die Tabelle zeigt weiter, daß man aber auch dem Fuchsinagar keine entscheidende Rolle für die Typhusdiagnose beimessen darf. Es bleibt nur ein Elektivnährboden, jedoch ist es bemerkenswert, daß von allen Kulturen, die auf den Drigalski-Platten blau wuchsen (IIc, III und IV), sich auf dem Fuchsinagar nur 2 am 2. Tage als verdächtig erwiesen.

Der spezifischen Serumreaktion muß es in jedem Falle vorbehalten bleiben, die endgültige Entscheidung über die Typhusnatur eines fraglichen Stammes zu bringen.

Ich habe nun in einer Reihe von Versuchen Typhus und Coli, sowie auch beide Bakterien mit typhusähnlichen nebeneinander gemischt

Tabelle II.

Bezeichnung der Kultur	Milchzucker-gärung	Traubenzucker-gärung	Milchgerinnung	Indolreaktion	Kartoffelkultur	Fuchsinagar
I. Gruppe: Alle Colizeichen +.						
No. 48	+	+	+	+	bräunlich	rot
II. Gruppe: a) Milchzuckergärung +, Traubenzuckergärung +.						
No. 23b	+	+	—	—	bräunlich	rot
" 46	+	+	—	+	"	"
" 23g	+	+	—	—	"	"
" 23f	+	+	—	—	weißlich	"
" 49	+	+	+	—	"	"
" 43	+	+	—	—	"	"
b) Milchzuckergärung +, Traubenzuckergärung —.						
No. 30	+	—	—	—	weißlich	rötlich
" 50	+	—	—	—	"	"
" 60	+	—	—	—	"	rot
" 1	+	—	—	—	"	"
" 67	+	—	—	—	gelblich	rötlich
" 56	+	—	—	—	weißlich	rötlich erst am 2. Tage
" 16	+	—	—	—	gelblich	rot
" 2	+ ¹⁾	—	—	—	"	rötlich
c) Milchzuckergärung —, Traubenzuckergärung +.						
No. 3	—	+	—	—	bräunlich	rot
" 23c	—	+	—	—	"	"
" 12	—	+	+	—	weiß	"
" 33	—	+	—	—	gelblich	"
" 70	—	+	—	—	weißlich	rötlich
" 71	—	+	—	—	bräunlich	"
" 72	—	+	—	—	"	"
" 73	—	+	—	—	"	"
" 74	—	+	—	—	"	"
" 40	—	+	—	—	"	rot
III. Gruppe: a) Milchgerinnung positiv, alle anderen Zeichen negativ.						
No. 26	—	—	+	—	bräunlich	unverändert
b) Milchgerinnung +, Indolreaktion +.						
No. 62	—	—	+	+	weißlich	rötlich
IV. Gruppe: a) Milchzuckergärung —, Traubenzuckergärung —, Milchgerinnung —, Indolreaktion —, Kartoffelkultur bräunlich, Fuchsinagar rot oder rötlich.						
No. 7	—	—	—	—	bräunlich	rötlich
" 11	—	—	—	—	"	"
" 63	—	—	—	—	"	"
" 58	—	—	—	—	"	"
" 23a	—	—	—	—	"	"
" 10	—	—	—	—	"	rötlich erst am 2. Tage
" 23d	—	—	—	—	"	rot
" 65	—	—	—	—	"	rötlich

1) Sehr schwach.

Bezeichnung der Kultur	Milchzucker-gärung	Trauben-zucker-gärung	Milch-gerinnung	Indol-reaktion	Kartoffel-kultur	Fuchsinagar
b) Milchzuckergärung —, Traubenzuckergärung —, Milchgerinnung —, Indolreaktion —, Kartoffelkultur weißlich.						
a) Fuchsinagar rötlich.						
No. 66	—	—	—	—	weißlich	rötlich
„ 6	—	—	—	—	„	„
β) Fuchsinagar unverändert.						
No. 64	—	—	—	—	weißlich	unverändert T.-Agglutina- tion negativ
Typhusbacillus zum Vergleich.						
	—	—	—	—	weißlich	unverändert

und auf Lackmusagar- und Fuchsinagarplatten gebracht, ferner künstlich mit Typhus und typhusähnlichen Bakterien geimpfte Stühle und Abwässer und endlich auch, soweit mir solche zu Gebote standen, frische Typhusstühle mit beiden Nährböden geprüft. Dabei habe ich mich davon überzeugen können, daß es durchweg leichter gelingt, auf den Fuchsinährböden die vielen mehr oder weniger typhusähnlichen Bakterien (sogenannte Paracoli- und Paratyphusbakterien) auszuschließen. Die hochroten Kolonien der Coli-Bakterien und auch die mehr oder weniger intensiv roten Kolonien anderer säure- und alkalibildender Bakterien markieren sich auf dem Fuchsinagar deutlicher gegenüber den farblosen Typhuskolonien als die roten Coli-Kolonien gegenüber den oft violetten Typhuskolonien des Lackmusagars. Abgesehen davon ist die Differenzierungsmöglichkeit der Kolonien auf dem Fuchsinagar eine weitgehendere, da eine große Anzahl der auf dem Lackmusagar blau wachsenden Bakterien auf dem Fuchsinagar in roten Kolonien wächst. Als einen Repräsentant dieser rot wachsenden Alkalibildner habe ich den Cholera vibrio angeführt, welcher in kirschroten Kolonien wächst.

Ich halte es daher für empfehlenswert, bei Untersuchungen auf Typhusbacillen, insbesondere wenn andere typhusähnliche Bakterien in Frage kommen, neben dem Lackmusagar den Fuchsinährboden zu verwenden. Beide Nährböden nebeneinander zu verwenden ist ratsam, weil es gelegentlich auch darauf ankommt, Paratyphusbacillen, die auf dem Fuchsinährboden wie Coli-Bakterien wachsen, von letzteren mit Hilfe des Lackmusagars zu unterscheiden.

Bei Verwendung des Fuchsinährbodens ist darauf zu achten, daß der Nährboden von Kondenswasser hinreichend befreit ist, was, wie beim Lackmusagar, durch längeres Offenstehen der Platten, nötigenfalls bei 37°, zu erreichen ist. Ebenso muß man, wie schon oben angedeutet, darauf achten, daß der Fuchsinagar vollständig reduziert und farblos ist.

Die Aussaat geschieht zweckmäßig mittels Glasstabes oder Platinspels.

Aus dem Angeführten geht auch, nebenbei bemerkt, hervor, daß man für die Cholera diagnose zweckmäßig nur den Lackmusagar, nicht aber den Fuchsinagar verwenden kann.

Gewisse Mängel, welche der Plattenmethode als solcher anhaften, vermissen wir allerdings auch bei der Verwendung des Fuchsinagars

nicht. Diese bestehen darin, daß wir die ersten Platten der jedesmal anzusetzenden Plattenserie für die Isolierung von Kolonien nicht verwerten können, weil letztere zu dicht stehen. Und doch lassen gerade diese am ehesten Typhuskeime vermuten, da die Typhusbakterien in der Regel in der Minderzahl vorhanden sind und bei der Aussaat mit größter Wahrscheinlichkeit vornehmlich auf die ersten Platten gelangen. Eine stärkere Verdünnung des Materials aber und das Ansetzen einer entsprechend größeren Reihe von Plattenserien würde die Untersuchung allzu beschwerlich und umständlich machen.

Zum Schlusse fasse ich das Ergebnis der Untersuchungen kurz dahingehend zusammen, daß die von v. Drigalski und Conradi angegebene Methode zwar einen großen Fortschritt in der Typhusdiagnose, insbesondere bei Stuhluntersuchungen, bedeutet, daß jedoch durch sie das wünschenswerte Ziel noch nicht erreicht ist, vielmehr weitere Hilfsmittel für die Diagnose uns noch dienlich sein können. Unter diesen habe ich auf den Fuchsinagar für gewisse Fälle hinweisen wollen. Versuche über die Verwendbarkeit des Koffeins in der Vorkultur sind seit längerem im Gange.

Herrn Prof. Dr. Dunbar und Herrn Abteilungsvorsteher Dr. Kister sage ich für die liebenswürdige Ueberlassung der Arbeit sowie für das Interesse, das sie meinen Untersuchungen entgegengebracht haben, auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage der Wirkung des Koffeins auf Typhus- und Colibakterien.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institut zu Hamburg. Direktor: Prof. Dr. Dunbar.]

Von Dr. F. Kloumann aus Christiania.

Zur wirksamen Bekämpfung der Typhuserkrankungen in einem Bezirk ist die Möglichkeit der schnellen und sicheren Auffindung der Erreger die unbedingte Voraussetzung. Diesem Ziele haben daher naturgemäß die unausgesetzten Bemühungen der letzten Jahre sich zugewandt. Der eingeschlagene Weg war dabei jedoch ein verschiedener. Zwei Momente kommen für den Nachweis der Typhusbakterien in Betracht. Einmal eine Anreicherung der Typhusbakterien gegenüber den anderen in dem Untersuchungsmateriale enthaltenen Keimen, sodann die leichte und schnelle Unterscheidung der Typhusbakterien von den Coli-Bakterien und den typhusähnlichen Bakterien. Letzterem Zwecke dienten vornehmlich die neuerdings in praktisch verwendbarer Methode empfohlenen farbigen Nährböden, ersteres Ziel suchte man zu erreichen durch Zusatz von Substanzen, die möglichst ohne Beeinträchtigung des Wachstums der Typhusbakterien dasjenige der Coli-Bakterien hemmten. Wir hatten es dabei jedoch nicht mit einer eigentlichen Anreicherungsmethode zu tun, wie es die Peptonvorkultur für die Cholera ist, sondern es kann sich nur um eine relative Vermehrung der Typhusbakterien handeln. Immerhin wäre es sehr erwünscht, wenn wir einen sowohl in flüssiger

wie in fester Form verwendbaren Nährboden hätten, durch den sicherlich nicht das Wachstum der Typhusbakterien geschädigt, aber das der Coli-Bakterien und womöglich auch der typhusähnlichen Bakterien wenigstens 24—48 Stunden zurückgehalten würde.

Roth¹⁾ machte nun die überraschende Mitteilung, daß man im Koffein ein Mittel besitzt, welches die Coli-Bakterien in Konzentrationen, welche Typhusbakterien nicht schaden, hemmt, wodurch er meint, eine Anreicherung möglich zu machen. Roth hat sowohl in Agarplatten wie in Bouillon durch Zusatz von 70—80 Proz. einer 1-proz. Koffeinelösung die Coli-Bakterien vollständig zu hemmen vermocht, während die Typhusbakterien ungehindert wuchsen. Obgleich die Mitteilung nur eine vorläufige war und keine Details enthielt, erschienen doch die Ergebnisse so bedeutungsvoll, daß mich Prof. Dunbar die Frage nachzuprüfen beauftragte.

In den Versuchen wurden 3 verschiedene Stämme von Coli- und Typhusbakterien von verschiedenem Alter und verschiedener Herkunft benutzt.

Ich trat nun zunächst der Frage näher, in welchen Konzentrationen des Koffeins die Typhus- und Coli-Bakterien in ihrem Wachstum gehemmt bzw. abgetötet werden. Zu dem Zwecke brachte ich in 10 Röhren genau 10 ccm Agar, setzte zu diesem von 1—10 ccm einer 1-proz. Koffeinelösung hinzu. Von einer 24-stündigen Typhusbouillon oder von einer in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmten Agarkultur wurde sodann jedes Röhren mit derselben Menge Typhusbakterien geimpft und davon Platten gegossen. Auf dieselben Weise wurde mit Coli vorgegangen. Nach 24 Stunden wurden die Platten untersucht. Das Resultat dieser Versuche fiel stets nahezu gleich aus, als ein Paradigma führe ich die Tabelle 1 an.

Tabelle 1.

ccm einer 1-proz. Koffeinelösung	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Typhus	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—	—
Coli	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—

+++ = zahlreiche und gut entwickelte Kolonien.

++ = die Zahl der Kolonien ist beinahe dieselbe, aber die Kolonien sind kleiner.

+ = sowohl die Zahl wie die Größe haben abgenommen.

— = kein Wachstum.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, entwickeln sich die Typhuskolonien auf Platten nur bis 30 Proz. der 1-proz. Koffeinelösung in gleicher Ueppigkeit, wie auf der Kontrollplatte ohne Koffein. Die Kolonien waren von nadelspitz- bis nadelkopfgroß. Bei 40-proz. Koffein (auf Platte 4) ist schon ein Unterschied zu bemerken. Die Kolonien, obwohl in Zahl ungefähr dieselben, sind bei weitem nicht so gut entwickelt, man findet sehr wenige große Kolonien, die meisten sind ganz kleine, eben sichtbare. Auf Platte 7 ist die Zahl stark zurückgegangen und auf Platte 8 ist kein Wachstum mehr erkennbar.

Von den Coli-Platten zeigte nur die Platte 1 eine ebenso gute Entwicklung der Kolonien wie die Kontrollplatte. Platte 2 und 3

1) Roth, Hyg. Rundsch. 1903. No. 10. *

zeigten nur ganz kleine Kolonien, mit Platte 4 nahmen die Kolonien sowohl an Größe wie auch an Zahl beträchtlich ab, und von Platte 6 ab ist kein Wachstum mehr zu bemerken. Bei 20 Proz. tritt also bereits eine deutliche Hemmung und bei 60 Proz. eine völlige Abtötung ein.

Die Coli-Bakterien sind somit auf Agarplatten entschieden empfindlicher gegenüber Koffein als die Typhusbakterien, aber Koffein ist in den von Roth angegebenen Konzentrationen für die Typhusbakterien auch nicht ein indifferenten Stoff. Es hemmt schon mit 40 Proz. die Entwicklung der Typhuskolonien etwas und die Konzentrationen, welche genügen, um die Coli-Bakterien auf Agarplatten ganz auszuschalten, haben eine nicht unerhebliche Einwirkung auf das Wachstum der Typhusbakterien. Die 3 verschiedenen Typhusstämmen verhielten sich nicht ganz gleich, aber der Unterschied war kein großer. Auch derselbe Typhusstamm konnte sich in verschiedenen Versuchen etwas verschieden verhalten. Mitunter habe ich auch beobachtet, daß in einer mit 60 Proz. einer 1-proz. Koffeidlösung versetzten Agarplatte nach 24 Stunden keine Kolonien sichtbar waren, erst nach 48 Stunden gingen die Kolonien auf.

Auch die 3 verschiedenen Coli-Bakterien verhielten sich nicht immer ganz gleich, im Durchschnitt war aber die Widerstandsfähigkeit gegen Koffein derart, wie sie die Tabelle 1 angibt.

Analog den Versuchen mit Agar, wurden ferner Versuche mit Bouillon angestellt. 10 Röhren wurden wie oben mit Koffein versetzt und mit derselben Menge Typhus- bzw. Coli-Bakterien geimpft. Um nun aber auch über die zeitlichen Verhältnisse der Entwicklungshemmung bei Typhus wie bei Coli Aufschluß zu erhalten, wurden gleich nach der Impfung, nach 6 und nach 24 Stunden von jedem Röhren Agarplatten gegossen und die Zahl der jedesmal gewachsenen Kolonien gezählt. Dabei ergab sich das in Tabelle 2 und 3 zusammengestellte Resultat.

Tabelle 2.

Koffeinzusatz in Proz. der 1-proz. Lösung	Trübung der Bouillon nach 24 Std.	Agarplatten aus der Bouillon (Zahl der Kolonien)		
		sofort	nach 6 Std.	nach 24 Std.
0	+++	1000	1200	140 000
10	+++	1000	1000	52 000
20	+++	800	900	6 600
30	++	900	800	600
40	++	900	800	1 000
50	+	700	600	800
60	+	800	400	500
70		600	400	140
80		500	500	30
90		500	500	8
100		100	70	5

Wenn man die Bouillon nach 24 Stunden (Kolumne 2 der Tabellen) betrachtet, so sieht man, daß von den mit Typhus geimpften koffeinhaltigen Bouillonröhren nur die 6 ersten getrübt sind, und daß die Trübung mit steigender Konzentration abnimmt, so daß in Röhren 6 eben noch eine Trübung sichtbar ist. Bei der Coli-Bouillon sind nur die 3 ersten koffeinhaltigen Röhren getrübt. Die Trübung deutet

Tabelle 3.

1 Koffeinzusatz in Proz. der 1-proz. Lösung	2 Trübung der Bouillon nach 24 Std.	3 Agarplatten aus der Bouillon (Zahl der Kolonien)		
		4 sofort	5 nach 6 Std.	6 nach 24 Std.
0	+++	900	1200	300 000
10	++	700	900	140 000
20	++	750	900	60 000
30	+	600	600	1 000
40		700	300	340
50		400	300	90
60		450	200	4
70		300	150	9
80		400	110	10
90		280	200	13
100		200	120	9

darauf, daß sich sowohl die Typhus- wie die Coli-Bakterien in gewissen Konzentrationen zu entwickeln vermögen, und, nach der Trübung zu schließen, hätte man zu erwarten, daß es sich um eine nicht unbedeutende Vermehrung der Bakterien handelte. Die angelegten Agarplatten zeigten jedoch, daß die Trübung nicht mit einer Vermehrung der Zahl der Bakterien zusammenfällt. Aus den gleich nach der Impfung gegossenen Platten ersieht man, daß in den Röhrrchen, welche 100 Proz. des Koffeins enthalten, eine selbst kurzdauernde Einwirkung eine erhebliche Abtötung der Typhusbakterien (Tabelle 2, Kolumne 3) zuwege bringt. Der Unterschied in der Zahl der Kolonien auf den übrigen Platten ist nicht größer, als man nach der größeren Verdünnung erwarten könnte.

Die nach 6-stündiger Bebrütung angelegten Platten (Kolumne 4) geben bei den Untersuchungen denselben Befund. Von den nach 24-stündiger Bebrütung angelegten Platten (Kolumne 5) zeigen nur Platte 2 (10 Proz.) und 3 (20 Proz.) eine Vermehrung der Bakterien. Aber trotzdem Röhrrchen 2 (Kolumne 2) ungefähr eine ebenso starke Trübung zeigte, wie das Kontrollröhrrchen 1, sieht man, daß die Bakterien in diesem ca. 3-fach so zahlreich wie in jenem sind. In Röhrrchen 3 haben sich, obgleich auch hier eine deutliche Trübung entstand, nur verhältnismäßig wenig Bakterien entwickelt. Von 30—60 Proz. ist die Zahl der Kolonien unverändert. In stärkeren Konzentrationen hat sich die Zahl der Typhusbakterien bedeutend verringert.

In der Coli-Bouillon (Tabelle 3) zeigt sich eine noch stärkere Einwirkung des Koffeins. Die Trübung der Bouillon (Kolumne 2) hört mit Röhrrchen 3 auf. Die Bakterien haben, wie die Agarplatten zeigen, von 40 Proz. ab schon nach 6 Stunden an Zahl erheblich abgenommen (Kolumne 4). Nach 24 Stunden sind die Bakterien in den koffeinhaltigen Röhrrchen 2 und 3 vermehrt, in Röhrrchen 4 ist keine Bakterienentwicklung nachzuweisen, in Röhrrchen 5 und 6 finden sich bedeutend weniger Keime und von Röhrrchen 7 ab nur einzelne Bakterien.

Diese Zahlen geben natürlich nur ungefähre Anhaltspunkte und sind nur ein Beispiel aus einer größeren Reihe von Versuchen, immerhin geht aus ihnen zur Genüge hervor, daß das Koffein selbst in geringen Mengen auf die Entwicklung der Typhusbakterien in Bouillon einen nachteiligen Einfluß ausübt, aber doch in schwachen Konzentra-

tionen eine geringe Vermehrung erlaubt und in stärkeren Konzentrationen wenigstens innerhalb einiger Stunden keine Abtötung bewirkt. Coli-Bakterien werden dagegen zwar in den Konzentrationen, in denen die Typhusbakterien sich noch vermehren, nicht ersichtlich gehemmt aber in solchen, in denen die Typhusbakterien eine zeitlang unbeeinflusst bleiben, nahezu abgetötet.

Nun ist es ja allerdings schon von Vorteil, wenn man bei der Aussaat typhusverdächtigen Untersuchungsmaterials die Coli-Bakterien im Wachstum hintanhaltend kann, sehr erwünscht wäre es aber, wenn ein gleiches gelänge bei den typhusähnlichen Bakterien, wie sie sich im Stuhle und verunreinigten Wasser finden. Wenn die im Stuhle vorhandenen alkaligen Bakterien, welche von Kristallviolett nach den Untersuchungen von v. Drigalski und Conradi nicht beeinflusst werden, sich besser als Typhusbakterien in koffeinhaltigen Nährböden entwickeln, so würden dadurch neue Schwierigkeiten geschaffen werden. Ich habe daher mit aus Schmutzwasser, sowie aus Stühlen stammenden alkaligen Bakterien wie auch mit Fleischvergiftern bezw. Paratyphusbakterien eine Reihe von Versuchen vorgenommen. Dabei stellte es sich heraus, daß die alkaligen Bakterien sich sehr verschieden verhalten: Ein Stamm aus Schmutzwasser wurde durch Koffein leicht im Wachstum geschädigt, beispielsweise fand schon in einer mit 20 Proz. einer 1,2-proz. Koffeinpflösung versetzten Bouillon eine nur ganz unbedeutende Entwicklung statt. Andere aus dem Schmutzwasser isolierte Alkalibildner dagegen erwiesen sich als resistenter und ließen sich auch in höheren Konzentrationen in etwa derselben Zahl wie Typhusbakterien nachweisen. Auch der Fleischvergifter *Bacillus Gärtner* verhält sich Koffein gegenüber ungefähr wie ein Typhusbakterium. Die Paratyphusbakterien scheinen jedoch nicht alle gleich gut das Koffein zu vertragen, während sich nämlich der Paratyphus Schottmüller B (welcher mit dem *Bacillus Gärtner* identisch zu sein scheint) ziemlich widerstandsfähig verhielt, etwa wieder wie der Typhusbacillus, war der Paratyphus Schottmüller A sogar noch empfindlicher als das *Bacterium coli*. Wenn dieses sich auch für andere Paratyphusstämme bewahrheiten sollte, so würde dadurch die Typhusdiagnose in der Tat eine weitere Erleichterung erfahren, wenn auch andererseits zwar diese Methode für den Nachweis der Paratyphusbakterien nicht wohl anwendbar sein würde. Leider hatte ich keine Gelegenheit, dieser Frage in einer größeren Versuchsreihe näher zu treten, da mich andere Verpflichtungen meine Arbeit abzuschließen zwangen.

Nach Erscheinen der Arbeit von Hoffmann und Ficker¹⁾ „über neue Methoden des Nachweises von Typhusbacillen“ habe ich nun das daselbst empfohlene Fleischwasser mit einem Zusatz von 10–100 Proz. einer 1,2-proz. Koffeinpflösung als Anreicherungsflüssigkeit angewandt. Dabei kam ich zu denselben Resultaten, wie ich sie bei meinen oben beschriebenen Versuchen erzielte, ich sehe daher von einer zahlenmäßigen Wiedergabe ab. Des weiteren habe ich sodann mit Hilfe der von den Autoren angegebenen Anreicherungs-methode künstlich infizierte Stuhlproben auf Typhusbakterien untersucht und die gewonnenen Resultate mit denjenigen verglichen, die mir die direkte Aussaat auf Lackmus-Nutrose-Milchzucker-Agarplatten nach v. Drigalski und Conradi

1) Hoffmann und Ficker, Hyg. Rundsch. 1904. No. 1.

gab. Von der mit Stuhl versetzten Anreicherungsflüssigkeit wurden sofort und nach einigen Stunden Lackmus-Nutrose-Milchzucker-Agarplatten angesetzt. Es war nun unverkennbar, daß unter dem Einflusse des Koffeins und Kristallvioletts eine erheblich geringere Zahl roter Kolonien auf den aus der Anreicherungsflüssigkeit angelegten Platten aufging, als bei direkter Aussaat auf die Lackmus-Nutrose-Milchzucker-Agarplatten. Aber es war andererseits auch zu konstatieren, daß die Zahl der Typhusbakterien entsprechend der Dauer ihres Aufenthaltes in der Anreicherungsflüssigkeit herabgesetzt wurde. So war die Zahl der Kolonien auf Platten, die nach 12 Stunden aus der Anreicherungsflüssigkeit angelegt wurden, bedeutend geringer, als die auf den sofort aus der Anreicherungsflüssigkeit angesetzten. Endlich waren auch nicht alle auf den Platten sichtbaren blauen Kolonien solche von Typhusbakterien, also die typhusähnlichen alkaligenen Bakterien erwiesen sich ebenfalls dem Koffein gegenüber als resistent. In meinen allerdings nur eine geringe Zahl betragenden Versuchen gelang das Auffinden der Typhusbakterien von den direkt aus dem Stuhl angelegten Lackmus-Nutrose-Milchzucker-Agarplatten ebenso leicht. In den Fällen, wo auf diese Weise Typhusbakterien nicht nachweisbar waren, bin ich auch mit dem Anreicherungsverfahren nicht zum Ziele gekommen. In der Annahme, daß die Koffeinkonzentration vielleicht für die von mir untersuchten Typhusstämme zu stark war, wurde darauf nur 40 Proz. Koffein für diese verwendet. Auch durch diese Anreicherungsflüssigkeit gelang es, die Zahl der Coli-Bakterien herabzusetzen, während die Typhusbakterien am Leben blieben, aber eine Vermehrung letzterer konnte nicht beobachtet werden.

Ein gleiches Resultat hatten Versuche, die ich mit Abwasser, welches mit Typhus- und Coli-Bakterien künstlich infiziert war, anstellte.

Nach meinen Untersuchungen also hält das Koffein schon in geringen Konzentrationen die freie Entwicklung sowohl der Typhus- wie der Coli-Bakterien zurück, die hemmende Wirkung ist jedoch gegenüber Coli-Bakterien stärker als gegenüber Typhusbakterien; mit stärkeren Konzentrationen gelingt es, die Zahl der Coli-Bakterien herabzudrücken, ohne diejenige der Typhusbakterien zu beeinflussen. In noch stärkeren Konzentrationen gehen Coli-Bakterien zu Grunde, während Typhusbakterien nur eine mehr oder weniger erhebliche Verminderung ihrer Zahl erfahren. Es gibt jedoch keine Konzentration des Koffeins, welche gleichzeitig die Coli-Bakterien in wirksamer Weise zu hemmen im stande wäre und eine Vermehrung der Typhusbakterien gestattete. Wir vermögen also mit dem Koffein keine eigentliche Anreicherung zu erzielen, sondern nur eine relative. Letztere gelingt aber zweifelsohne, so daß, wenn auch die Methode keine in jeder Hinsicht ideale ist, doch die Anwendung des Koffeins in Verbindung mit den farbigen Nährböden einen weiteren Fortschritt in der Typhusdiagnose bedeutet.

Zum Schlusse bleibt mir die angenehme Pflicht, dem verehrten Direktor des hygienischen Institutes, Herrn Prof. Dr. Dunbar, meinen besten Dank auszudrücken, sowohl für den erhaltenen Arbeitsplatz im Institute, als für die Anregung zu dieser Arbeit. Ebenso möchte ich Herrn Dr. Kister für manche gute Ratschläge meinen besten Dank sagen.

Nachdruck verboten.

Apparat für intravenöse Injektion grösserer Mengen infektiöser Kultur.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.
Direktor: Prof. Tavel.]

Von Dr. A. Carini, Chef der Vaccineabteilung.

Mit 1 Figur.

Bei der Immunisierung von Pferden zur Serumgewinnung haben in letzter Zeit die intravenösen Einspritzungen eine umfangreichere Anwendung erfahren.

Da nun bei diesen Injektionen meist Material (Pest, Typhus, Milzbrand etc.) zur Verwendung kommt, das für den Menschen sehr infektiös und dessen Handhabung sehr gefährlich ist, wie die Efrkrankungsfälle der Experimentatoren in Lissabon, Wien, Berlin und Petersburg deutlich zeigen, so erschien es überaus wünschenswert, eine Injektionsmethode zu finden, die durchaus einfach ist, keine zu großen Anforderungen an die Geschicklichkeit und Anstelligkeit des Personals stellt und auch nicht speziell sehr ruhige Pferde verlangt.

Im hiesigen Institut braucht Prof. Tavel für die intravenösen Einspritzungen lebender Pestkulturen als Injektionsapparat eine Troikartkanüle, an welche vermittelt Anschlußolive ein Kautschukschlauch adaptiert wird, der am anderen Ende einen Trichter trägt.

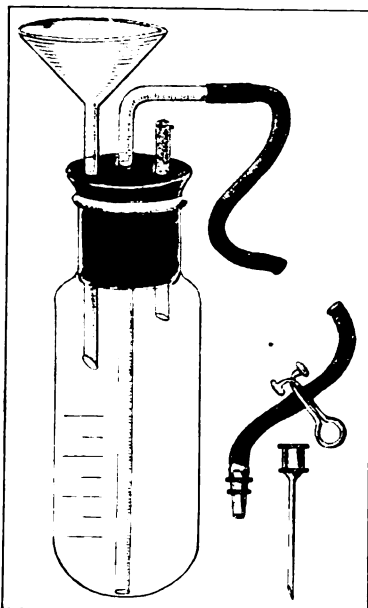
Dieser sehr einfache Apparat hat sich bis jetzt als brauchbar erwiesen, dürfte aber unter Umständen nicht ohne Gefahr sein. Diese besteht darin, daß beim Eingießen der Kultur in den Trichter leicht kleine Flüssigkeitströpfchen umherspritzen und so Infektionen verursachen können. Außerdem kann durch eine plötzliche Bewegung des Pferdes die Injektionsflüssigkeit verschüttet werden.

Diese Gefahren habe ich durch folgenden kleinen Apparat zu beseitigen gesucht.

Der Apparat besteht aus einer graduierten Flasche von 250—500 ccm Inhalt, mit weitem Hals, der durch einen Gummistöpsel verschlossen ist. Letzterer besitzt drei Durchbohrungen:

1) eine für ein Rohr, welches bis zum Boden der Flasche reicht und am oberen äußeren Ende einen Gummischlauch zum Ansetzen an die Kanüle trägt;

2) eine zweite für einen kleinen Trichter;



3) eine dritte für ein kurzes Glasrohr, mit äußerem Watteverschluß; dieses Rohr ragt nur wenig in das innere der Flasche hinein und dient zum Entweichen der Luft bei Füllung der Flasche durch den Trichter.

Zur Sterilisation wird der Apparat oben mit Pergamentpapier umwickelt. Vor dem Gebrauch wird nun die Flasche durch den Trichter zur Hälfte mit Kochsalzlösung gefüllt. Zum Füllen des Schlauches bzw. zum Austreiben der Luft aus demselben wird einfach die Flasche so geneigt, daß die Flüssigkeit in das mit dem Schlauch armierte Rohr (1), nicht aber in den Trichter (2) oder in das Rohr (3) hineinfließt. Ist der Syphon so in Gang gesetzt, so wird der Schlauch mit einem Quetschbahn abgeklemmt.

Behufs Einfüllung der Injektionskultur in die Flasche entfernt man den Stöpsel und gießt dieselbe direkt in das Glas.

Diese Vorbereitungen sind vorsichtig im Laboratorium auszuführen.

Die Injektion wird nun folgendermaßen vorgenommen:

Nach Abrasieren der Haare an der Injektionsstelle am Halse wird die Haut gut desinfiziert; ein Einschnitt ist nicht nötig.

Die Kanüle wird in die durch Stauung gefüllte Vene eingestochen und nachdem man sich durch das reichlich ausströmende Blut versichert hat, daß die Kanüle sich innerhalb der Vene befindet, setzt man den Schlauch auf die Kanüle auf, unterbricht die Stauung und öffnet den Quetschbahn. Die Flüssigkeit fließt nun ruhig und gleichmäßig ein. Die Schnelligkeit des Ausfließens kann durch Heben und Senken der Flasche reguliert werden.

Bevor die Kulturflüssigkeit ganz ausgeflossen ist, gießt man noch etwas Kochsalzlösung durch den Trichter nach, um das infektiöse Material zu verdünnen.

Durch Wiederholung dieser Manipulation werden Flasche, Schlauch und Kanüle schließlich so durchgespült, daß nur noch sehr spärliche Bakterien zurückbleiben. Ist auch die Spülflüssigkeit eingeflossen, so zieht man die Kanüle unter einem Sublimatwattebausch heraus und bringt den ganzen Apparat zur Desinfektion in ein mit 5-proz. Kresollösung bereit stehendes Gefäß.

Ueber der Injektionsstelle macht man einen kleinen Verband mit Watte und Kollodium.

Inhalt.

- Bail, Oskar**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität, p. 266.
- Carini, A.**, Apparat für intravenöse Injektion größerer Mengen infektiöser Kultur, p. 318.
- De Blasi, Dante**, Vergleichendes Studium über einige Stämme des *B. dysentericum*, p. 161.
- Feistmantel**, Die Tuberkulinreaktion, p. 282.
- Freyer, M.**, Das Immunserum der Kuhpockenlymphe, p. 272.
- Ghedini, Giovanni**, Ueber die toxische Wirkung einiger Organextrakte. Anatomische und histologische Beobachtungen. [Schluß.], p. 224.
- Ghon, Anton** u. **Sachs, Milan**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. [Schluß.], p. 178.
- Heller, O. u. Bertarelli, E.**, Beitrag zur Frage der Bildung toxischer Substanzen durch Lyssavirus, p. 216.
- Jacqué, Léon**, Le procédé de Cambier pour la recherche du bacille typhique, p. 300.
- v. Janicki, C.**, Bemerkung über Cestoden ohne Genitalporus, p. 222.
- Kloumann, F.**, Beitrag zur Frage der Wirkung des Koffeins auf Typhus- und Colibakterien, p. 312.
- Konrádi, Daniel**, Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser, p. 203.
- Lingard, A.**, Can the "Piroplasma bigeminum" find a habitat in the human subject?, p. 214.
- Madsen, Th. et Walbum, L.**, Toxines et antitoxines. De la ricine et de l'antiricine, p. 242.
- Michalski, J.**, Bacillus conjunctivitis subtiliformis, p. 212.
- Petkowitsch, Drag. S.**, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien, p. 304.
- Pirrenne, Yvo**, Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal, p. 256.
- Stäubli, Carl**, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten. Experimentelle Untersuchungen an Meer-schweinchen, p. 291.

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 Korrekturabsüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

*Nachdruck verboten.***Beiträge zur Frage der Arteinheit der Streptokokken.**[Aus dem hygienischen Institute der freien Hansastadt Bremen
(Direktor: Prof. Dr. Tjaden).]Von **Hermann Rieke**, approb. Arzt aus Bremen.

Die Frage, ob die für den Menschen pathogenen Streptokokken einer einzigen Art angehören, d. h. morphologisch und in ihrer physiologischen Funktion untereinander gleich sind, oder ob man mehrere Arten von Streptokokken unterscheiden kann, ist in der letzten Zeit viel umstritten worden, ohne daß bis jetzt eine Einigung erzielt werden konnte. Die Frage hat nicht nur theoretisches Interesse für den Bakteriologen, sondern gerade in praktischer Hinsicht ist sie von hervorragender Wichtigkeit: Sie dient als Grundlage für die Serumtherapie der Streptokokkeninfektionen.

Einerseits muß man bei der Herstellung eines Streptokokkenserums eventuell darauf bedacht sein, das Serum mittels verschiedener Streptokokken zu gewinnen — andererseits gibt uns die Artverschiedenheit der Streptokokken möglicherweise die Erklärung dafür, warum ein Streptokokkenserum vielleicht in einem Falle hilft, im anderen vollständig im Stiche läßt. Es haben aus diesem Grunde die Darsteller von Streptokokkenserum: Aronson, Marmorek, Moser, Menzer u. a. m. die Frage nach der Arteinheit der Streptokokken diskutiert. Es seien hier aus einer Arbeit Marmoreks einige Stellen angeführt. „Schon in unserer Arbeit über den Streptokokkus (Annales de l'Institut Pasteur. Juli 1895) haben wir bei der Besprechung der Frage der Unterarten jegliche Bedeutung und entscheidenden Wert den äußeren Kennzeichen des Mikroben wie der Größe der einzelnen, die Ketten bildenden Körner oder der Fähigkeit, die Bouillonkultur zu trüben oder schließlich der Länge der Ketten abgesprochen.“ — „Es gibt Eigenschaften, welche allen Gliedern einer Bakterienart zukommen; das sind jene, welche Folge der ursprünglichen Lebensfunktionen sind.“ „Zwei Eigenschaften, die wir seit mehreren Jahren studieren, müssen in erster Reihe genannt werden: Es sind dies die in vivo vor sich gehende Hämolyse des Kaninchenblutes und die Unfähigkeit des Streptokokkus im eigenen Kulturfiltrat zu wachsen. Seit Beginn unserer Versuche über die Virulenzsteigerung der Streptokokken haben wir konstatiert, daß das Blut der Kaninchen, welche uns zur Tierpassage dienen, sich noch im Körper löst und eine klare, durchsichtige Burgunderfarbe annimmt. Diese Eigenschaft, die roten Blutkörperchen in den Gefäßen selbst aufzulösen, ist nicht bloß eine Fähigkeit, welche den Streptokokken allein zukommt, sondern — und dieses steigert ganz besonders den Wert dieses unterscheidenden Merkmales — sie wächst im geraden Verhältnis mit der Virulenz. Je virulenter ein Streptokokkus ist, um so rascher und besser löst er das Blut im Körper seines Wirtes. Die Hämolyse in vitro kann jedoch verschiedene leichte Abweichungen je nach der Abstammung des Mikroben darbieten.“

„Was das zweite, allen Streptokokken gemeinsame Zeichen betrifft, von dem wir sofort reden werden, so behalten die beiden Streptokokken, jener des Scharlachs und der Druse, ihre gesonderte Stellung, aber stets so, daß der Streptokokkus, den man beim Scharlach findet, trotz

eines geringen Unterschiedes mit den anderen Kettenformen des Menschen übereinstimmt, während der Streptokokkus der Druse diese gemeinsame Eigenschaft fast gar nicht besitzt. Wir haben davon in einer Mitteilung gesprochen, die wir in der Pariser biologischen Gesellschaft gemacht haben. Wir sagten daselbst: „Einige Stunden nach Impfung in den Nährboden, selbst in einen, der den Lebensbedürfnissen des Streptokokkus am besten entspricht, hört dieser gänzlich auf sich zu vermehren; von diesem Augenblicke an beginnen die Ketten zu Boden zu fallen und die Flüssigkeit wird vollkommen klar. Wenn man die Kultur filtriert, und wenn man in dieses Filtrat eine Spur von Streptokokken wieder impft, findet keine weitere Vermehrung derselben statt. Wir müssen jedoch hinzufügen, daß die eingeimpften Mikroben 14 Tage und länger lebend bleiben. Wenn man eine weitere Entwicklung in einem so beschaffenen Nährboden zu erzielen wünscht, ist es unbedingt notwendig, demselben eine kleine Menge eines frischen Nährstoffes (z. B. gewöhnlicher Bouillon oder etwas konzentrierter Bouillon) hinzuzusetzen. Wenn man somit eine geringe Quantität frischen Nährsubstrats einer Kultur hinzusetzt, in der jede Mikrobenentwicklung aufgehört hat, so sieht man schon nach einigen Stunden diese wieder von neuem beginnen und die Flüssigkeit wieder trübe werden.“

So kommt Marmorek zu dem Resultate, daß alle Streptokokken des Menschen derselben Art angehören (nur der Streptokokkus der Pferdedrüse ein ganz verschiedener sei) und der Streptokokkus der Scharlachangina quantitative Abweichungen zeige, im Grunde aber den anderen gleiche. Aus diesem Grunde „beharrt er auf der Arteinheit der Streptokokken“. Auch andere Forscher kommen zu demselben Resultate, daß es sich „bei aller Verschiedenheit der einzelnen Stämme doch nur um Uebergänge von einer Form zur anderen handelt“. Es soll hier nicht weiter auf die einzelnen Arbeiten eingegangen werden, die im Literaturverzeichnis angegeben sind.

Schottmüller veröffentlichte eine Arbeit über „die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar“¹⁾. Da diese Arbeit den Ausgangspunkt der später folgenden Untersuchungen bildete, so sei es gestattet, auf den Inhalt etwas näher einzugehen. Schottmüller unterscheidet auf Grund des verschiedenen Wachstums der Streptokokken auf Blutagar und in Blutbouillon drei verschiedene Streptokokkenarten.

- 1) Streptokokkus longus pathogenes seu erysipelatos,
- 2) Streptokokkus mitior seu viridans,
- 3) Streptokokkus mucosus.

Der Blutagarnährboden wurde folgendermaßen hergestellt: „Ich verfare nach mannigfachen Versuchen so, daß ich zu 5 ccm gewöhnlichem Agar, der flüssig gemacht und auf 45° abgekühlt ist, ca. 2 ccm Blut von annähernd normalem Hämoglobingehalt hinzufüge. Ist Blut und Agar innig vermenget, wird die Mischung in eine Petri-Schale ausgegossen. Auf dem so hergestellten Nährboden wird nach Verdunstung des Kondenswassers von der zu untersuchenden Bakterienkultur oder von anderem bezüglich seines Bakteriengehaltes aufzuschließenden Materials, z. B. Eiter, eine genügende Menge ausgestrichen. Man erzielt so ein Oberflächenwachstum. Nicht bei allen Bakterienarten gleicht diesem das Aussehen

1) Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21.

der Kolonien im Inneren des Nährbodens, so daß es häufig erwünscht ist, auch das Tiefenwachstum der Bakterienart zu beobachten. In diesem Falle und öfters dann, wenn man aus einem Bakteriengemisch die verschiedenen Arten isolieren will, wird man den noch flüssigen Blutagar im Röhrchen mit dem Material beschicken und dann erst in die Schale ausgießen.“ Das dem Agar zugesetzte Blut war stets Menschenblut. Ueber das Verhältnis, in welchem Blut und Bouillon zur Blutbouillon gemischt wurden, finden sich keine bestimmten Angaben.

Der *Streptokokkus longus* zeigte eine besondere Wachstumseigentümlichkeit, die folgendermaßen beschrieben wird: „Streicht man von seiner Kultur oder irgend einem Substrat — etwa Blut oder Eiter — in dem er enthalten ist, auf einer Blutagarschale aus oder legt eine Mischkultur an und gießt diese in eine Petri-Schale aus, so entwickeln sich schon innerhalb der nächsten 12—18 Stunden bei Bruttemperatur graue, etwas unregelmäßig rundliche Kolonien an der Oberfläche und ähnliche, meist aber wetzsteinförmige Kolonien im Innern des Nährbodens, welche einen durchaus charakteristischen kreisrunden, hellen Hof um sich gebildet haben. Dieser durch völlige Resorption des Hämoglobins entstandene Hof hat einen Durchmesser von ca. 2—3 mm, je nach dem Alter der Kultur. Nur in einem Falle ist die Hämolyse des *Streptokokkus* nicht so augenfällig, nämlich dann, wenn man so viel Keime in ein Blutagarröhrchen einsät, daß sich die einzelnen Kolonien hernach auf der Platte in der Entwicklung gegenseitig hemmen. Solche Platten haben nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank einen schmutzig braunroten Farbenton angenommen. Der beschriebene helle Hof ist um die Kolonien herum nicht zu erkennen. Diese Bemerkung ist praktisch wichtig, weil öfters, namentlich bei Leichen, im Blut so massenhaft Streptokokken gefunden werden, daß die Blutagarmischkulturen bei oberflächlicher Betrachtung nur eine Veränderung ihres Farbtones zeigen und vom weniger Geübten das Wachstum der Kolonien übersehen werden kann. Bei Züchtung der Streptokokken in Blutbouillon wird die hellrote Farbe desselben allmählich in ein Burgunderrot verwandelt. Diese Wachstumseigentümlichkeit des *Streptokokkus* habe ich nun schon seit 7 Jahren als eine ganz konstante Erscheinung bei allen Stämmen der verschiedensten Provenienz immer wieder gefunden, mochte es sich um frische oder alte, langefortgezüchtete, um hoch oder schwach virulente Kulturen handeln; so glaube ich behaupten zu können, daß der in Rede stehende Kokkus in der geschilderten Weise unter allen Umständen wächst.“

Ein ganz verschiedenes Verhalten auf diesen Nährböden zeigte der *Streptokokkus mitior seu viridans*: „Derselbe bildet, auf Blutagar ausgestrichen, nach 24-stündigem Wachstum bei 37° auf dem Impfstrich eine sehr feine graue oder schwarzgraue Auflagerung, nur wenn das Ausgangsmaterial reichlich aufgetragen wird, findet ein etwas üppigeres Wachstum statt. Im allgemeinen war das Wachstum aller Stämme dieser Gruppe ein gleichartiges, nur bei einzelnen Vertretern fand die Entwicklung recht langsam statt, so daß zuweilen, namentlich bei den ersten Generationen, 36—48 Stunden vergingen, bis makroskopisch eine Entwicklung deutlich sichtbar war. Andere Stämme boten wieder ein üppigeres Wachstum dar, als die Mehrzahl derselben.“

Findet ein isoliertes Auftreten von Kolonien statt, so erscheinen dieselben zuerst als feine, fast farblose, später grau bis grün-schwarze Punkte; am 2. Tage haben sie sich zum Teil bis zu Klein-

stecknadelkopfgröße entwickelt. Auch bei längerem Aufenthalt der Platten im Brutschrank findet eine weitere Ausdehnung der Kultur nicht statt.

Bezüglich des Wachstums im Innern des Nährbodens ist folgendes zu bemerken. Selten nach 24 Stunden, in der Regel aber erst nach 36—48 Stunden, ja zuweilen erst nach 3 und 4 Tagen, sieht man die Kolonien in der Platte sich als feine grüne Punkte entwickeln, welche die Größe eines Stecknadelkopfes kaum erreichen. Die Hämolyse des Strept. m. ist so gering, daß eine makroskopisch sichtbare Resorption des Blutfarbstoffes bei Verwendung einer Blutagarmischung von 2:5 (s. oben) im allgemeinen nicht stattfindet. (Benutzt man aber zur Plattenkultur Agar, dem nur einige Tropfen Blut pro Röhrchen beigemischt sind, so läßt sich dann auch makroskopisch eine hämolytische Einwirkung auf das Nährsubstrat in Form eines schmalen hellen Saumes um die Kolonie herum erkennen.)

Blutbouillon wird durch den Streptokokkus diffus getrübt. Das Hellrot macht einer braunen Färbung Platz.

Die oben beschriebenen Wachstumseigentümlichkeiten — die Farbstoffbildung und das Unvermögen, auf oder in Blutagar (Mischungsverhältnis 2:5) Hämoglobin in sichtbarer Weise aufzulösen — bewahrten die Stämme nun, mochten sie über Jahresfrist auf gewöhnlichem oder Blutagar fortgezüchtet, täglich oder wöchentlich übertragen werden, oder mochten sie endlich eine Tierpassage — sofern dies überhaupt gelang — durchgemacht haben. Nur aus theoretischen Gründen sei erwähnt, daß ich ganz verschwindend selten Blut antraf, welches von einzelnen Stämmen in stärkerem Grade angegriffen wurde. In diesen, wie gesagt, praktisch belanglos seltenen Fällen, bildete sich dann um die einzelne Kolonie auch beim Verhältnis von Blut und Agar 2:5 ein schmaler heller Hof, aber erst ganz allmählich, im Verlauf von Tagen, und auch hier konnte noch ein grüner Schimmer erkannt werden.“

Der Streptokokkus mucosus, der im ganzen 7mal bei ganz verschiedenen Leiden gefunden wurde, verhält sich wiederum anders: „Als durchaus charakteristisch ist wieder die Kultur auf unserem Blutagar zu bezeichnen. Bei Bruttemperatur von 37° erhebt sich innerhalb 24 Stunden auf dem Impfstich ein glänzender, saftig schleimiger, grüngrauer Belag, der nach weiteren 48 Stunden eine dunklere Färbung anzunehmen pflegt, aber der Glanz, das schleimige Aussehen schwindet: der Belag trocknet auch hier. Isolierte Kolonien erreichen Linsengröße, anfangs erhaben, flachen sie nach einigen Tagen ab und zeigen zentral einen Nabel. Kolonien im Innern des Blutagars erscheinen dunkelgrün, rund und sind nach 24-stündigem Wachstum über stecknadelkopfgroß. Makroskopisch konnte ich bei meinen Stämmen Hämolyse erst nach vielen Tagen beobachten.“

Wurde eine Blutagarkultur ausschließlich bei 22° gezüchtet, so entwickelte sich in 48 Stunden wohl ein deutlicher, schleimiger Rasen, wenn auch nicht so üppig wie bei 37°, bemerkenswerterweise aber kam es bei dieser Kultur nicht zur Bildung des grünen Farbstoffes, der Belag zeigte nur eine dunklere Schattierung als der Nährboden.

Während einfache oder Zuckerbouillon sich nicht als günstiger Nährboden für den Strept. mucosus erwiesen hatte, genügte ein Zusatz von wenigen Tropfen Blut zu diesem Nährsubstrat, um ein reichliches Wachstum zu gewährleisten. Die Flüssigkeit war nach 24-stündigem

Aufenthalt im Brutschrank von 37° diffus getrübt und grünlich verfärbt.

Seit $\frac{1}{2}$ Jahr wurden nun im hiesigen hygienischen Institut eine Reihe von Streptokokkenstämmen verschiedener Herkunft daraufhin untersucht, ob sich die Angaben Schottmüllers bestätigten. Von 30 Stämmen zeigten 25 die charakteristischen Eigenschaften des Streptokokkus longus bei Züchtung in Blutagar: Es bildete sich um die Kolonien ein heller Hof von bald größerer, bald geringerer Ausdehnung, bei Züchtung in Blutbouillon trat die Burgunderrotfärbung ein. (Schon hier sei bemerkt, daß, wenn dann diese Kulturen einige Tage bei Zimmertemperatur im Schranke gestanden hatten, die Farbe aus Burgunderrot sich in dunkles Braunrot umgewandelt hatte, doch wurde hierauf zunächst kein besonderes Gewicht gelegt.) Von den Stämmen zeigten 5 keinen hellen Hof bei Wachstum auf gewöhnlichem Blutagar, doch trat bei Züchtung in Blutagar, der im Verhältnis von 5 Tropfen Blut zu 5 ccm Agar gemischt war, ein kleiner heller Hof auf. Die Kolonien waren kleine schwärzliche Punkte, nur bei einem Stamm wurde ein grünlicher Schimmer beim Wachstum in Blutagar bemerkt. Blutbouillon färbte sich in 3 Tagen braunrot. — Hiernach zeigten die ersten 25 Stämme die Eigenschaften des Streptokokkus longus, die letzteren 5 diejenigen des Streptokokkus mitior seu viridans nach Schottmüller. Leider zeigten die Stämme des Streptococcus mitior geringe Lebensdauer bei der Fortzüchtung, so daß bald 3 verloren gingen. Die beiden anderen, welche als Strept. mitior angesehen waren, stellten sich bei oft wiederholter Untersuchung als Streptokokkus longus heraus. Sie sind jetzt durch 5 Monate hindurch weitergezüchtet. Die Kolonien bildeten auch in gewöhnlichem Blutagar einen hellen Hof, dessen Größe mit der Zeit eher zunahm. Blutbouillon färbte sich burgunderrot innerhalb 2—3 Tagen. Seit 8 Wochen stand nun nicht ein einziger Streptokokkenstamm zur Verfügung, bei dem sich die Charakteristika des Strept. mitior nachweisen ließen.

Während somit Schottmüllers Angaben über den Streptokokkus longus, soweit das Wachstum auf und im Blutagar in Frage kommt (über das Wachstum in Blutbouillon siehe später), sich bestätigten, kann über den Strept. mitior auf Grund obiger Untersuchungen ein Urteil nicht abgegeben werden. Hierzu genügt das vorliegende Material nicht. Es sei jedoch gleich darauf hingewiesen, daß der von Schottmüller angegebene Unterschied über das Verhalten beider Arten in Blutbouillon wahrscheinlich nicht besteht, da der Strept. longus die Blutbouillon bei genügendem Abwarten in derselben Weise verändert, wie dies als für den Strept. mitior charakteristisch angegeben ist.

Schottmüller erwähnt, daß der Strept. longus beim Wachsen in Blutbouillon die hellrote Farbe derselben allmählich in Burgunderrot umwandelt, während der Strept. mitior die rote Farbe in Braunrot verändert. Auf Anregung von Herrn Professor Dr. Tjaden wurden nun die Umwandlung des Blutfarbstoffes, die dabei vor sich gehenden Veränderungen des Hämoglobins mit Zuhilfenahme des Spektroskopes genauer untersucht. Die Untersuchungen wurden angestellt mit einem Streptokokkenstamm von einer Scharlachangina, einem anderen von einer leichten Angina und einem Stamm von einer Gelenkeiterung. Alle 3 Stämme zeigten ein gleiches Verhalten, denn Unterschiede in der

Zeitdauer und Reichlichkeit des Wachstums können nicht als prinzipielle gelten. Bei den Züchtungsversuchen (in Blutagar und Blutbouillon) wurde ausschließlich Menschenblut verwandt. Dieses wird in der Krankenanstalt bei Gefrierpunktsbestimmungen u. dgl. durch Venenpunktion gewonnen und, in sterilen Flaschen aufgefangen und defibriert, auf Eis lange Zeit aufbewahrt, sodaß es im hygienischen Institute stets zur Verfügung steht. Der Blutagar wurde in den von Schottmüller angegebenen Verhältnissen hergestellt, die Blutbouillon im Verhältnis von 10—12 Tropfen auf 10 ccm Bouillon.

Setzt man zu 10 ccm derartiger Blutbouillon eine Oese Streptokokken (von einem der oben erwähnten Stämme), läßt dieselbe nach genügendem Durchschütteln im Brutschrank bei 37° stehen, so senkt sich etwa innerhalb 1—2 Stunden das Blut zu Boden, scharf abgesetzt von der klaren Bouillon. Nach 12 Stunden schon sieht man burgunderroten Farbstoff von dem Bodensatz in der Bouillon aufsteigen, und zwar ist die Färbung deutlich lackfarben. Schüttelt man dann die Bouillon nochmals durch und läßt sie weiter im Brutschrank stehen, so ist oft schon in einigen Stunden, sicher in 24 Stunden, die ganze Flüssigkeit intensiv burgunderrot — lackfarben — gefärbt; gefärbte Blutkörperchen senken sich nicht mehr zu Boden. Untersucht man jetzt die Flüssigkeit mikroskopisch, so sieht man außer den zahlreich gewachsenen Streptokokken die zerstörten roten Blutkörperchen, sogenannte Schatten. — Die Auflösung der roten Blutkörperchen geht wesentlich langsamer vor sich, wenn man die Blutbouillon nicht durchschüttelt, so sieht man z. B. nach 24 Stunden und selbst nach 72 Stunden nur spärliche Farbstoffwolken vom Boden aufsteigen. — Läßt man die Blutbouillon nun weiter bei 37° im Brutschrank stehen, so wandelt sich die burgunderrote Farbe allmählich in Braunrot um, es gibt Momente, in denen der Farbenton mit dem bloßen Auge, auch in Verdünnungen, nicht zu erkennen ist, und wo auch das Spektroskop noch keine Entscheidung fällt. Das Spektroskop zeigt dann die charakteristischen Absorptionstreifen des Oxyhämoglobins und den dritten Absorptionstreifen des neutralen Methämoglobins schon angedeutet, auch die Verdunkelung der rechten Hälfte des Spektrums, aber die Verschiebung der Absorptionstreifen des Oxyhämoglobins ist noch nicht zu bemerken. Die Umwandlung von Burgunderrot in Braunrot geht im Erlenmeyer-Kolben innerhalb von 3—4 Stunden vor sich, dauert jedoch im gewöhnlichen Reagenzglas länger. Stellt man die mit Streptokokken verimpfte Blutbouillon im Reagenzglas in den Brutschrank, schüttelt nach 24 Stunden durch, so besteht nach 48 Stunden intensive Burgunderrotfärbung, nach 72 Stunden ist oft schon Braunfärbung eingetreten, vielfach jedoch erst am 4. Tage.

Man kann nun die Blutbouillon, ohne sie durchzuschütteln, so lange im Brutschrank stehen lassen, bis die Farbe beim Durchschütteln ständig braun erscheint, sodaß man den Uebergang über Burgunderrotfärbung an der ganzen Flüssigkeitsmenge überhaupt nicht zu Gesicht bekommt. Man bemerkt dann nur rote Farbstoffwolken über dem Bodensatz. — Diese Umwandlung des Blutfarbstoffes in Braunrot nach vorhergehender Burgunderrotfärbung zeigten außer den zu den sämtlichen folgenden Untersuchungen verwendeten 3 Streptokokkenstämmen auch sämtliche als *Streptokokkus longus* diagnostizierten 25 Stämme.

Nunmehr wurde die Blutbouillon in den einzelnen Phasen spektro-

skopisch untersucht. Als Vergleichsspektrum fungierte das Spektrum einer meist frischen Oxyhämoglobinlösung von Menschenblut, hergestellt durch Verdünnung von Blut mit 10fach verdünnter physiologischer Kochsalzlösung. Die frische Blutbouillon, unverändert durch Streptokokken, mit der NaCl-Lösung bis zur spektroskopischen Flüssigkeit verdünnt, gab ein normales Oxyhämoglobinspektrum. Die burgunderrot gefärbte Bouillon zeigte ebenfalls ein Oxyhämoglobinspektrum. Am schärfsten waren die Absorptionsstreifen, wenn die Blutbouillon zentrifugiert und dann durch Berkefeldt-Kerzen filtriert wurde. Die braunrot gefärbte Bouillon zeigte ein wesentlich anderes spektroskopisches Bild, das Spektrum des neutralen Methämoglobins (s. Abbildung). Mit bloßem Auge läßt sich die Umwandlung des Oxyhämoglobins in neutrales Methämoglobin an Verdünnungen oft besser erkennen als an unverdünnter Blutbouillon, der rote Ton der Farbe ist einem Gelbbraun gewichen. — Es war also das Oxyhämoglobin in neutrales Methämoglobin umgewandelt worden. Nun erhebt sich die Frage: Ist die Umwandlung des Oxyhämoglobins in neutrales Methämoglobin eine spezifische Wirkung der Streptokokken oder wandelt sich das Oxyhämoglobin von selbst im Laufe der Zeit in neutrales Methämoglobin um?

Läßt man Blutbouillon im Brutschrank ohne Zusatz von Bakterien stehen, so lösen sich schließlich auch die roten Blutkörperchen auf, es tritt Burgunderrotfärbung ein und zuletzt Braunfärbung. Dieser Prozeß verläuft jedoch sehr langsam, im Erlenmeyer-Kolben trat frühestens nach 8 Tagen im Brutschrank Auflösung der roten Blutkörperchen und nach 14 Tagen das Spektrum des neutralen Methämoglobins auf. Ebenfalls zeigte Blut ohne Zusatz von Bouillon, das im Reagenzglas im Brutschrank etwa 14 Tage gestanden hatte, im Spektrum neutrales Methämoglobin. (Blutbouillon im Reagenzglas blieb im Brutschrank 3 Wochen unverändert.) Daß es sich nicht um Wirkung von Bakterien handelte, wurde durch Untersuchung der Flüssigkeiten auf Keimfreiheit in jedem Falle festgestellt. Es unterliegt also keinem Zweifel, daß das Oxyhämoglobin sich mit der Zeit in neutrales Methämoglobin umwandelt. Es liegt aber ein großer Unterschied in der Zeit, innerhalb welcher die Umwandlung durch Streptokokken verursacht wird, bezw. von selbst vor sich geht. Oxyhämoglobinlösungen, in denen die roten Blutkörperchen künstlich zerstört waren, sodaß sich die Lösung burgunderrot färbte, beweisen dies ebenfalls. Die Lösungen wurden teils mittels physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, teils mittels Bouillon, im Verhältnis von 0,5–3,0 ccm Blut zu 10 ccm Flüssigkeit; die roten Blutkörperchen wurden durch dreimaliges Gefrierenlassen und nachfolgendes Wiederauftauen zerstört. Die Lösung hatte dann eine burgunderrote Färbung angenommen, jedoch heller und klarer als die Blutbouillon mit Streptokokkenzusatz. Diese Lösung blieb im Brutschrank 6 Tage lang unverändert (im Eisschrank über 3 Wochen), stets zeigte sich Oxyhämoglobin im Spektrum. Unter dem Einfluß von Streptokokken vollzog sich dann auch im Reagenzglas im Laufe von 12–24 Stunden die Umwandlung des OHB in n. MHB (neutrales Methämoglobin).

Nachdem nun feststeht, daß die Streptokokken in kurzer Zeit das nach Auflösung der roten Blutkörperchen freigelöste OHB in n. MHB umwandeln, erhebt sich die weitere Frage: „Ist diese Umwandlung des OHB in n. MHB an den Lebensprozeß der Streptokokken geknüpft?“ Zur Entscheidung dieser Frage wurden folgende Versuche angestellt. Eine 24-stündige Streptokokkenbouillonkultur wurde durch Berke-

feldt-Kerzen keimfrei filtriert, das Filtrat sorgfältig auf Sterilität durch Verimpfen größerer Mengen in Bouillon untersucht. Dann wurden von dem Filtrat einem Blutbouillonröhrchen der gewöhnlichen Mischung 10 ccm zugesetzt, auch dem Filtrat direkt Blut zugesetzt im Verhältnis von 10 Tropfen zu 10 ccm Filtrat. Dabei zeigte sich keine Hämolyse, nachdem die Röhrchen 8 Tage lang im Brutschrank gestanden hatten. Ein Teil der Röhrchen wurde zur besseren Vermengung des Filtrates mit dem Blute wiederholt durchgeschüttelt — ohne daß sich das Resultat änderte. Nach längerer Zeit tritt auch hierbei Hämolyse und Umwandlung des OHB in n. MHB ein, wie bei nicht verimpfter Blutbouillon. — Ferner wurde Blutbouillon, in der durch Streptokokken das OHB frei gelöst war (Burgunderrotfärbung und spektroskopischer Nachweis von OHB) zentrifugiert und abfiltriert durch Berkefeldt-Kerzen, das Filtrat sorgfältig auf Sterilität untersucht. Das Filtrat zeigte im Brutschrank noch nach 3 Tagen die Burgunderrotfärbung und spektroskopisch OHB-Spektrum; setzte man dann diesem Filtrat Streptokokken zu, so verwandelte sich in 12 Stunden die Burgunderrotfärbung in Braun, spektroskopisch wurde die Umwandlung des OHB in n. MHB bewiesen.

Es ist also bei den Versuchen keine Einwirkung des Streptokokkenfiltrates auf die roten Blutkörperchen und das Oxyhämoglobin zu Tage getreten. Dann bleibt noch die andere Möglichkeit, daß die Streptokokkenleiber Substanzen enthalten, welche die Hämolyse und Umwandlung des OHB in n. MHB zu stande bringen. Zur Entscheidung dieser Frage wurde wiederholt folgender Versuch gemacht.

Eine 24-stündige Streptokokkenbouillonkultur diente als Ausgangspunkt. Durch Abimpfen in Bouillonröhrchen wurde bewiesen, daß sie lebende Streptokokken enthielt. Dann wurde die Bouillonkultur eine Stunde auf 60° erhitzt, bei späteren Versuchen auf 70°, weil nach Simon eine Temperatur von 60° zur Abtötung der Streptokokken nicht sicher ausreichend ist. Darauf wurde in einwandfreier Weise kontrolliert, daß die Bouillon lebende Streptokokken nicht mehr enthielt. Hierzu genügt (nach Simon) nicht ein Abimpfen in frische Bouillon; es wurde die abgetötete Streptokokkenkultur zentrifugiert und der Rückstand mit frischer Bouillon gemischt und in den Brutschrank gebracht. Dabei trat kein Wachstum ein, es wurde also mit abgetöteten Streptokokkenleibern gearbeitet. Diese wurden aus der Bouillonkultur zentrifugiert, 3mal durch Auswaschen mit sterilisierter physiologischer Kochsalzlösung und nachfolgendes Zentrifugieren von eventuell anhängenden gelösten Stoffen gereinigt und zuletzt der Bodensatz zum Versuch benutzt. Die Bakterienleiber wurden nun der Blutbouillon zugesetzt und ihr Einfluß auf die roten Blutkörperchen und das Oxyhämoglobin im Brutschrank beobachtet. Nach 6 Tagen lagen die Bakterienleiber noch auf dem scharf am Boden abgesetzten Blutbodensatz, von Hämolyse war nichts zu sehen, beim Durchschütteln war die Färbung der Blutbouillon hellrot, im Spektrum sah man das Spektrum des OHB. Einige derartige Röhrchen wurden täglich durchgeschüttelt, um eine genügende Vermengung der Bakterienleiber mit dem Blute zu erhalten — auch in diesen trat der Uebergang in Braunfärbung nicht ein. Die Bakterienleiber der abgetöteten Streptokokken sind also nicht im stande, die erwähnten Veränderungen des Blutes herbeizuführen. Daß dieser Prozeß nur durch die Lebensfunktionen der Streptokokken vor sich geht, beweist auch noch ein anderer Versuch: Es wurden wieder in gewohnter Weise Streptokokkenblutbouillonkulturen angelegt. Nachdem die Strepto-

kokken die Blutbouillon lebhaft burgunderrot gefärbt hatten, wurde ein Teil der Röhrcchen in den Eisschrank gesetzt, während die übrigen zur Kontrolle im Blutschrank blieben. Dann trat die Braunfärbung bei den im Eisschrank befindlichen nicht ein (während sie bei den im Brutschrank verbleibenden vorhanden war), nach 72 Stunden zeigte die spektroskopische Untersuchung noch OHB. Setzte man die Röhrcchen dann wieder in den Brutschrank, so entwickelte sich in 12 Stunden die Braunfärbung.

Diese Versuche beweisen in gleicher Weise, daß die Auflösung der roten Blutkörperchen und die Umwandlung des Blutfarbstoffes nur durch lebende Streptokokken zu stande kommen. Es seien nun noch einige besondere Beobachtungen erwähnt, die bei diesen Versuchen gemacht wurden.

2 Röhrcchen Blutbouillon wurden zum Vergleich mit je einer Platinöse und je 0,5 ccm 24-stündiger Streptokokkenbouillonkultur geimpft. Nach völligem Durchmischen kamen die Röhrcchen in den Brutschrank und es zeigte sich, daß nach 24 Stunden die Hämolyse in dem Röhrcchen, welches mit 0,5 ccm Kultur verimpft war, weiter vorgeschritten war, als in dem anderen. Wurden dann beide Röhrcchen durchgeschüttelt und weiter im Brutschrank belassen, so trat die Braunfärbung bei beiden in der gleichen Zeit ein. Der Unterschied in der Zeit, die die Auflösung der roten Blutkörperchen erfordern, bestand nicht, wenn derselbe Versuch im Erlensmeyer-Kolben gemacht wurde (s. unten). Will man den ganzen Prozeß des Abbaues beschleunigen, so ist es nur erforderlich, die Blutbouillon in ausgebreiteter Schicht von geringer Tiefe der Einwirkung der Streptokokken auszusetzen oder im Reagenzglase häufig durchzuschütteln. Ersteres wurde dadurch bewiesen, daß im Erlensmeyer-Kolben 30 ccm Bouillon mit 2 ccm Blut gemischt wurden, so daß die Bodenfläche etwa $\frac{1}{2}$ cm hoch bedeckt war. Wenn in dieser Mischung Streptokokken gezüchtet wurden, so hatte Durchschütteln keinen Einfluß auf die Schnelligkeit des Prozesses der Hämolyse. Also nur im Reagenzglase bei ruhigem Stehen desselben zeigt sich ein Einfluß der verschieden großen Bakterienmenge, und zwar nur auf die Hämolyse der roten Blutkörperchen. Bei der Umsetzung des Oxyhämoglobins in neutrales Methämoglobin spielt die Bakterienmenge anscheinend eine geringere Rolle.

Weiter wurde untersucht, ob die Menge des der Bouillon zugesetzten Blutes von Einfluß ist. Den Bouillonröhrcchen wurden 1 Tropfen, 3 Tropfen, 5 Tropfen, 0,5 ccm, 1,0 ccm, 2,0 ccm Blut zugesetzt und 3 Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur. Ein Zusatz von 1—3 Tropfen Blut läßt die Burgunderrot- und Braunfärbung nicht genügend deutlich erkennen. Die Färbung der Bouillon ist ein schmieriges Rosa, das sich mit der Zeit auch unter Einwirkung der Kokken nicht ändert. In den anderen Röhrcchen trat die Burgunderrotfärbung und Umwandlung des OHB in neutrales MHB in der üblichen Weise ein, nur das letzte Röhrcchen, dem 2,0 ccm Blut zugesetzt waren, änderte sich nach der Burgunderrotfärbung nicht mehr, sondern behielt diese Farbe noch nach 10 Tagen. Bei Wiederholung dieses Versuches und Ausdehnung desselben auf 3 und 4 ccm Blutzusatz trat jedoch jedesmal Braunfärbung ein, und wurde spektroskopisch neutrales MHB nachgewiesen.

Diese Untersuchungsreihen sind deshalb von einiger Wichtigkeit, weil gegen das Kulturverfahren auf bezw. in Blutagar der Einwand gemacht worden ist, daß bei zu reichlichem Blutzusatz die bakteriziden

Kräfte des Blutes das Wachstum der Kokken beeinträchtigen könnten. Die eben erwähnten Erfahrungen sprechen gegen diesen Einwand.

Besondere Erwähnung verdient noch die Tatsache, daß sämtliche hierauf untersuchten Streptokokkenstämme (etwa 25) die Blutbouillon zwar erst in Burgunderrot, dann aber gleichmäßig sämtlich in Braunrot verwandelten durch Umwandlung des OHB in neutrales MHB. Schottmüller erwähnt als einen charakteristischen Unterschied des *Streptokokkus longus* und *Streptokokkus mitior*, daß ersterer Blutbouillon burgunderrot färbt, letzterer braunrot. Die angeführten Versuche ergeben, daß diejenigen Streptokokkenstämme, die alle charakteristischen Eigenschaften des *Streptokokkus longus* bei der Züchtung auf und in Blutagar zeigen, die Blutbouillon schließlich braun färben durch Umwandlung des OHB in neutrales MHB. Man muß nur die genügende Zeit, 2—4 Tage, warten, bzw. die geeigneten Verfahren (Umschütteln, Züchtung im Erlenmeyer-Kolben) anwenden, damit diese Umwandlung eintritt. Es kann deshalb der von Schottmüller angegebene Unterschied in der Funktion des *Streptokokkus longus* und *Streptokokkus mitior* nicht bestätigt werden. Zur Zeit steht leider kein Streptokokkenstamm zur Verfügung, der als *Str. mitior* angesehen werden kann, um seine Wirkung auf Blutbouillon mit der des *Str. longus* zu vergleichen. Es soll jedoch nicht bestritten werden, daß eventuell Unterschiede im Wachstum der Streptokokken in und auf Blutagarnährböden eine Artunterscheidung der Kokken ermöglichen. Die obigen Untersuchungen berechtigen nicht, hierüber ein Urteil abzugeben.

Nach Abschluß der Untersuchungen kam mir eine Arbeit von Simon über „die Gifte der Streptokokken“ zu Gesicht. Nach derselben ist es anderen Untersuchern (Besredka) gelungen, hämolytisch wirksames Filtrat aus Streptokokkenbouillonkulturen herzustellen. Diese Versuche verdienen jedenfalls nachgeprüft zu werden.

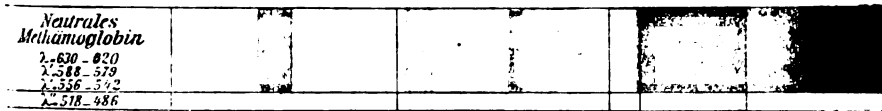
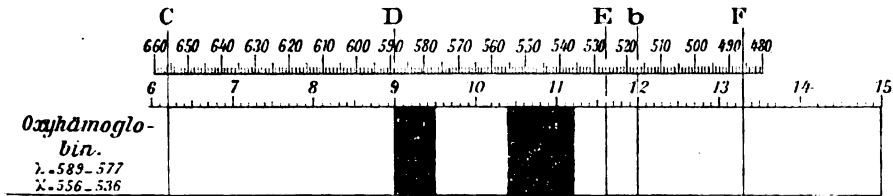
Zusammengefaßt ist das Ergebnis der angeführten Versuche folgendes:

1) Die als *Str. erysipelatos* anzusprechenden Streptokokken lösen bei Züchtung in Blutbouillon die roten Blutkörperchen auf, machen das Oxyhämoglobin frei und verwandeln es in neutrales Methämoglobin. Makroskopisch zeigt sich dieser Vorgang in einer Umwandlung der hellroten Farbe der Blutbouillon in Burgunderrot und schließlich in Braunrot. Von besonderen erleichternden oder erschwerenden Umständen hängt es ab, ob dieser Prozeß schneller oder langsamer vor sich geht.

2) Diese Umwandlung des Oxyhämoglobins in neutrales Methämoglobin ist eine Folge der physiologischen Funktionen der Streptokokken, sie ist geknüpft an den Lebensprozeß derselben. Weder durch das Filtrat einer Streptokokkenkultur konnte dieser Prozeß hervorgerufen werden, noch waren die Bakterienleiber der abgetöteten Streptokokken hierzu im stande.

3) Ein Unterschied in der Funktion der verschiedenen untersuchten Streptokokkenstämme (*Str. erysipelatos*) ist bei diesen Versuchen nicht bemerkt worden, sie verhielten sich sämtlich gleich.

4) Eine Unterscheidung von Streptokokkenarten durch diese Methode ist nicht gelungen, doch berechtigen die Versuche nicht endgültig zu beurteilen, ob es verschiedene Arten von Streptokokken gibt.



(Die Abbildungen sind entnommen aus dem Arch. f. Anat. u. Phys. 1901. Phys. Abt. Suppl. p. 178 ff. Beiträge zur Spektroskopie des Blutes von Dr. E. Ziemke und Dr. F. Müller.)

Literatur.

- 1) Aronson, Untersuchungen über Streptokokken- und Antistreptokokkenserum. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42/43.)
- 2) —, Weitere Untersuchungen über Streptokokken. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 25.)
- 3) —, Ueber neuere Fortschritte auf dem Gebiete der Serumtherapie, mit besonderer Berücksichtigung des Antistreptokokkenserums. (Ber. d. deutsch. pharm.-Ges. 1903. No. 446.)
- 4) —, Bemerkungen zu dem Artikel des Herrn Dr. Moser: Ueber Antistreptokokkenserum bei Scharlach. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 1.)
- 5) Baginsky, Ueber einen konstanten Bakterienbefund bei Scharlach. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 27/28.)
- 6) —, Ueber Antistreptokokkenserum bei Scharlach. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 48.)
- 7) Buss, Ueber die Beziehungen zwischen Angina und akutem Gelenkrheumatismus. (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LIV.)
- 8) Escherich, Die Erfolge der Serumbehandlung des Scharlach etc. (Neue Therapie. 1903. No. 3.)
- 9) Gelbrich, Ueber Streptokokken im faulenden Tierblute. Diss. Tübingen, 1896.
- 10) Knorr, Experimentelle Untersuchungen über den Streptococcus longus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893.)
- 11) Marmorek, Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 14/15.)
- 12) Meyer, Zur Einheit der Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 40.)
- 13) Pasquale, Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken. (Zieglers Beiträge zur patholog. Anat. etc. Bd. XII.)
- 14) Piorkowski, Ueber Streptokokkenserum. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 48.)
- 15) Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20/21.)
- 16) Simon, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. 1903. No. 3/4.)
- 17) Ziemke und Müller, Beiträge zur Spektroskopie des Blutes. (Arch. f. Anat. u. Phys. Phys. Abt. 1901. p. 177 ff.)

Nachdruck verboten.

Zur Toxingewinnung aus gefrorenen Typhusbacillen.

[Aus dem Laboratorium der hydrotherapeutischen Anstalt der Universität Berlin. Leiter: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Brieger.]

Von Oberstabsarzt a. D. Dr. **R. Bassenge** und Dr. **Martin Mayer**.

Mit der Gewinnung eines für praktische Zwecke brauchbaren, d. h. eines zum Immunisieren geeigneten Typhustoxins, haben sich in letzter Zeit viele Forscher ohne nennenswerten Erfolg beschäftigt. Im September v. J. machte Macfadyen auf der 75. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte die aufsehenerregende Mitteilung¹⁾, daß es ihm gelungen sei, aus Typhusbacillen ein brauchbares Toxin dadurch zu gewinnen, daß er dieselben mittelst sehr niedriger Temperaturen in einen spröden, bröckeligen Zustand versetzte und sie in diesem mechanisch zertrümmerte. Die Typhusbacillen wurden mittelst flüssiger Luft auf eine Temperatur von etwa -190° C gebracht, in gefrorenem Zustand zerkleinert, die so gewonnenen Zellbestandteile mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch Zentrifugieren derartig von allen Beimengungen befreit, daß hieraus eine bakterienfreie Zellflüssigkeit gewonnen wurde. Die mit dieser Zellflüssigkeit behandelten Versuchstiere produzierten in ihrem Blutserum antitoxische und bakterizide Körper. Die Zellflüssigkeit selbst wirkte in größeren Dosen auf Versuchstiere toxisch, in kleineren Dosen regte sie eine Produktion antitoxischer Substanzen an, welche geeignet war, die Tiere vor tödlichen Dosen der Bakterienzellflüssigkeit zu schützen. Den besonderen Vorteil seiner Methode der Immunisierung erblickt Macfadyen in dem Umstand, daß die von allem unnötigen Ballast befreiten Bakteriensäfte sehr schnell im Organismus resorbiert werden und so die Erzeugung antitoxischer Körper beschleunigen.

Eine weitere Mitteilung²⁾ gab eine genaue Beschreibung der Methode, mit welcher die Zellflüssigkeit gewonnen wurde. Dieselbe erforderte einen nicht ganz einfachen Apparat, wie überhaupt die Gewinnung der Zellflüssigkeit mit den bis jetzt bekannten Methoden viele Schwierigkeiten bietet. Zu der Zerkleinerung der gefrorenen Bakterien bedarf es nach Macfadyen und Rowland eines elektrischen Motors, welcher den auf einem eisernen Ständer montierten Zertrümmerungsapparat in Tätigkeit setzt. Dieser selbst besteht aus einem metallenen Gefäß, in welchem ein genau schließender Zapfen in schnelle rotierende Bewegung unter gleichzeitigem Druck gegen die Wandungen und den Boden des Gefäßes versetzt werden kann und dadurch die gefrorenen Bacillenleiber zerstört. Der ganze Zertrümmerungsapparat wird durch eine Hebelvorrichtung in ein darunter angebrachtes Gefäß mit flüssiger Luft eingetaucht, wodurch die Temperatur desselben auf etwa -190° C herabgesetzt wird.

Von früheren Versuchen, keimfreie Zellflüssigkeiten aus Typhusbakterienleibern zu gewinnen, die toxische Eigenschaften zeigten, waren

1) Macfadyen, Allan, Ueber das Vorkommen und den Nachweis von intracellulären Toxinen. Eigenbericht über den auf der 75. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte gehaltenen Vortrag. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 40. Ver.-Beil. p. 310)

2) Macfadyen, Allan und Rowland, Sidney, Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXIV. 1901. p. 765.)

es noch am meisten diejenigen von Conradi¹⁾, welche Erfolg hatten. Conradi überließ das Bakterienmaterial von 10—20-stündigen Typhusagarplatten 24—48 Stunden lang mit 0,85-proz. Kochsalzlösung versetzt, der aseptischen Autolyse im Brutschranke. Nach Filtration durch Berkefeld-Filter und Einengung im Vakuum auf $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{50}$ des Volumens erhielt er ein Typhusgift, von dem 0,2 ccm ein Meerschweinchen von 350 g innerhalb 24 Stunden töteten. Ueber antitoxische und bakterizide Versuche mit seinem Toxin gibt er nichts an.

Neisser und Shiga²⁾, die Typhusbacillen nach Erhitzung auf 60° der Autolyse überließen und mit viel geringerem Material arbeiteten als Conradi, nämlich mit 1 Agarkultur, erhielten Filtrate, die dem Serum der Versuchstiere bakterizide und agglutinierende Eigenschaften verliehen, aber selbst absolut ungiftig waren.

Ferner erhielten Brieger und der eine³⁾ von uns durch Aussalzen in Ammoniumsulfat ähnliche Substanzen wie Neisser und Shiga. In einer neueren Versuchsreihe konnten sie zeigen, daß nicht nur durch Autolyse der lebenden Bakterien bei Bruttemperatur, sondern schon durch bloßes Schütteln in Wasser suspendierter Typhusbacillen im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur, teilweise auch beim Stehenlassen bei Zimmertemperatur derartige spezifische Substanzen selbst aus kleinsten Bakterienmengen abgeschieden werden. Eine wirklich toxische Substanz erhielten auch sie nicht aus den Bakterienleibern, erst nach Eindampfen im Vakuum gelang es, tödliche Wirkung bei Meerschweinchen und Kaninchen zu erhalten. Wenn man in Betracht zieht, wieviel Bakterienmaterial Conradi benutzte, um mit der stark eingengten Flüssigkeit toxische Wirkung zu erzielen, erscheint es fraglich, ob es sich da um echte spezifische Toxine gehandelt hat, zumal keine weiteren Versuche über antitoxische Eigenschaften seiner Sera etc. vorliegen.

Um aus den Bakterienleibern selbst etwa vorhandene Toxine zu erhalten, erschien das Verfahren von Macfadyen und Rowland daher vielversprechend, indem es einer möglichst zertrümmerung der Leibes substanz — ähnlich wie bei Gewinn des Tuberkulins — entsprach; allerdings benötigten auch sie einer verhältnismäßig großen Bakterienmenge.

Im Oktober v. J. wurden im Laboratorium des Herrn Geheimrat Brieger zuerst die Versuche zur Herstellung von Typhustoxin vermittelst flüssiger Luft aufgenommen und den Winter über fortgeführt.

Die hierzu nötige flüssige Luft wurde von dem Direktor der Gesellschaft für Markt- und Kühlhallen, Berlin SW., Trebbinerstraße 5, Herrn Krüger, im Einverständnis mit Herrn Professor Dr. v. Linde in zuvorkommender Weise kostenlos zur Verfügung gestellt. Besonders Herrn Direktor Krüger sei auch an dieser Stelle für die tatkräftige Förderung wissenschaftlicher Bestrebungen unser verbindlichster Dank abgestattet. Leider gestatteten die Mittel des Laboratoriums die Aufstellung eines Apparates zur maschinellen Zertrümmerung der gefrorenen Typhusbakterien nicht. Indessen gelang die manuell ausgeführte Zertrümmerung im Mörser, wie die mehrfache mikroskopische und kulturelle

1) Conradi, H., Ueber lösliche, durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe aus Ruhr- und Typhusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.)

2) Neisser und Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)

3) Brieger und Mayer, Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien (Typhusbacillen). (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 18.)

4) Dieselben, erscheint Deutsche med. Wochenschr. 1904.

Untersuchung der zertrümmerten Massen ergab, hinreichend gut, indem nur eine geringe Zahl lebender und keimfähiger Bacillen zurückblieb.

Die Gewinnung des Zellinhaltes der Typhusbakterien geschah auf folgende Weise. Eine Anzahl (6—8) mit Agar beschickter und mit erprobten Typhusstämmen geimpfter Flaschen mit einer Agarfläche von etwa 200 qcm wurden auf 24—36 Stunden dem Brutschrank von 37° C übergeben. Die nach dieser Zeit gewachsenen reichlichen Kulturmassen wurden abgekratzt und mit möglichst wenig Bouillon abgeschwemmt. Die gewonnenen Kulturmassen hatten eine sirupartige Konsistenz; nötigenfalls konnte, wenn zur Abschwemmung etwas mehr Bouillon gebraucht worden war, durch scharfes Zentrifugieren und Abgießen der überstehenden nur wenig getrübbten Bouillonschicht das Volumen verringert werden.

Durch Uebergießen dieser dickflüssigen Kulturmassen mit flüssiger Luft im Mörser bildeten sich starre Eisklumpen, welche unter Anwendung ziemlicher Kraft mit dem Pistill zertrümmert werden konnten. Dieses Verfahren wurde nach dem jedesmaligen teilweisen Auftauen 3—4mal wiederholt. Die wieder aufgetauten Massen enthielten stets noch kulturell und mikroskopisch im hängenden Tropfen nachweisbare lebende Typhusbacillen. Es wurden daher die erhaltenen Massen wieder mit Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in Pukall-Filtern keimfrei abfiltriert.

Das Uebergießen der sirupkonsistenten Kulturmassen mit flüssiger Luft ergab sehr starre, steinharte, schwer manuell zu zerkleinernde Eisklumpen. Es erschien daher vorteilhaft, die Kulturmassen vor dem Gefrierenlassen möglichst ganz wasserfrei zu machen. In mehreren Versuchsreihen wurden deshalb die auf die oben beschriebene Art gewonnenen Kulturmassen dem Exsikkator auf 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur in flachen Glasschalen übergeben, bis dieselben zu leicht abbröckelnden, blätterigen, splinterigen Massen von gelblicher Farbe eingetrocknet waren.

Die so gewonnenen Massen wurden entweder allein oder mit etwa gleichen Mengen sterilen Quarzsandes durch Uebergießen mit flüssiger Luft gefroren und im gefrorenen Zustand durch starkes Reiben mit Hilfe des Pistills zertrümmert. Auch hier wurde das Verfahren des Gefrierens und nachfolgenden Zerreibens stets 3—4mal wiederholt. Die resultierende dickbreiige Masse wurde aufgeschwemmt und durch Pukall-Filter bakterienfrei filtriert. Wenn sie mit Quarzsand vermischt war, wurde sie vorher durch Zentrifugieren vom Quarzsand befreit. Es wurden auch einige Male die nach dem Gefrieren und Zertrümmern gewonnener Massen aufgeschwemmt, mehrere Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und dann erst durch Pukallisieren bakterienfrei gemacht.

Das Filtrieren der Massen durch Pukall-Filter war nicht nur deshalb nötig, weil die vielfachen Manipulationen mit gewonnener Zellflüssigkeit die Gefahr einer Verunreinigung durch Keime nahelegte, sondern es erwies sich auch bei der stets vorgenommenen mikroskopischen und kulturellen Prüfung, daß eine allerdings geringe Anzahl Typhusbakterien trotz der vielen damit vorgenommenen Schädigungen der Vernichtung entging und seine Keimfähigkeit bewahrte. Es war erstaunlich, die Widerstandskraft einzelner Typhusbakterien zu beobachten, welche die völlige Austrocknung im Exsikkator, das wiederholte Gefrieren in Temperaturen von -190° C, das Zertrümmern im gefrorenen Zustande, das stundenlange Schütteln im Schüttelapparat aushielten, ohne ihre Keim-

fähigkeit einzubüßen. Eine Probe getrockneter pulverisierter, gefroren gewesener, wieder getrockneter Typhuskulturmasse enthielt noch nach 4-wöchentlicher Aufbewahrung im Brutschrank in absolut trockenem Zustand keimfähige Typhusbacillen. In einer anderen, nur im Exsikkator getrockneten und im Brutschrank aufbewahrten Probe von Typhuskulturmassen wurden noch nach 7 $\frac{1}{2}$ Wochen massenhaft keimfähige Typhusbacillen nachgewiesen¹⁾.

Die durch Aufschwemmung und Pukallisierung gewonnene Zellflüssigkeit hatte je nach dem Grade ihrer Konzentration eine heller oder tiefer gelbliche Färbung, war nach dem Filtrieren absolut klar und durchsichtig, sowie ohne Niederschläge und zeigte einen leichten Sperma-geruch; sie ergab positive Biuret- und Millonsche Reaktion, negative Reaktion mit Bialschem Pentosereagens und Fehlingscher Lösung.

Beim Mischen dieser unverdünnten Zellflüssigkeit zu gleichen Teilen mit dem Serum eines Kaninchens, das mit einem durch Ausschüttelung gewonnenen Typhuszellsaft vorbehandelt war, entstand nach 3—4-stündigem Aufenthalt im Brutschrank eine deutliche Präzipitation.

Das Arbeiten mit den gefrorenen und getrockneten Bacillenleibern ist nicht ganz ungefährlich und bedarf großer Vorsicht. Beim Loskratzen der angetrockneten Bacillenmassen von den Schalen und beim Zertrümmern der steinhart gefrorenen Bacillen läßt es sich nicht vermeiden, daß Teilchen im Arbeitsraum und auf dem Arbeitsplatz zerstreut werden, auch wohl gelegentlich dem damit Arbeitenden in das Gesicht fliegen. Es wurde dieser Teil der Arbeit stets von dem einen von uns, welcher gegen Typhus aktiv immunisiert²⁾ war, vollzogen, da mit dem Umstand gerechnet werden mußte, daß noch keimfähige Typhusbacillen zerstreut werden konnten. Die Desinfektion des Arbeitsplatzes, seiner Umgebung und der benutzten Geräte wurde niemals dem Diener überlassen, sondern von dem Arbeitenden selbst ausgeführt.

Die Prüfung der gewonnenen Zellflüssigkeiten zeigte nun, daß diese lange nicht so giftig waren, als man nach der Menge des verwendeten Ausgangsmaterials hätte erwarten können. Die erhaltenen Zellflüssigkeiten mußten wiederholt im Exsikkator durch Austrocknen eingedickt werden, um ein Toxin zu erhalten, dessen sicher tödliche Dosis für Meerschweinchen von 2—300 g Gewicht 1 ccm nicht überschritt.

Als es nach vielen Bemühungen gelungen war, eine Zellflüssigkeit zu erhalten, welche diesen Bedingungen entsprach, wurden mit derselben Kaninchen behandelt, und zwar erhielten Tiere Injektionen von 1—5 ccm Zellflüssigkeit in die Ohrvene. Durch die Einspritzungen erlitten die Tiere schnell vorübergehende Störungen in ihrem Wohlbefinden und Gewichtsabnahme bis zu 200 g innerhalb 24 Stunden. Eine neue Injektion wurde immer erst dann vorgenommen, wenn die Tiere das frühere Gewicht wieder erreicht hatten.

Ein Kaninchen von 2040 g Gewicht hatte in der Zeit vom 23. Januar 1904 bis 2. Februar 1904 je eine Dosis Zellflüssigkeit von 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 und 5,0 ccm eingespritzt erhalten. Am 7. Tage nach der letzten Injektion, nachdem das Körpergewicht des Tieres bis auf 2170 g gestiegen war, wurde Blut zur Prüfung entnommen. Das Serum dieses Tieres hatte einen Agglutinationstiter von 1:100; 0,05 ccm dieses

1) Vergl. auch Ficker, Martin, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. (Habilitationsschrift, Leipzig, Veit & Co., 1903.)
2) Bassenge und Rimpau, Beitrag zur aktiven Immunisierung der Menschen gegen Typhus. (Kochsche Festschrift, p. 329.)

Serums schützte das Meerschweinchen gegen die 3—4-fach tödliche Dosis lebender Typhusbakterien. Auch die rein antitoxische Kraft dieses Serums gegen Toxininjektionen war nicht erheblich.

Ferner zeigte sich, daß das Toxin sehr wenig haltbar war, denn der Wert einer steril gebliebenen Toxinlösung war nach ca. 4 Wochen auf den dritten Teil des ursprünglichen Titors gesunken.

Das Ergebnis unserer Versuche war demnach im wesentlichen ein negatives. Wir erhielten eine keimfreie Flüssigkeit, die geringe toxische Eigenschaften für Meerschweinchen hatte und im Tierkörper agglutinierende und bakterizide Antikörper erzeugte. Die Flüssigkeit gab mit Typhusserum spezifische Präzipitierung.

Wir sind uns wohl bewußt, daß unsere Versuchsanordnung weit hinter der Zertrümmerungsmethode Macfadyens zurückstand. Trotzdem halten wir uns für berechtigt, Schlüsse betreffs der Methode daraus zu ziehen. Das Ausgangsmaterial für die Gewinnung der Zellflüssigkeit muß dabei stets ein unverhältnismäßig großes sein. Zieht man in Betracht, daß eine Menge körperfremder Zellen, z. B. von Tierorganen der verschiedensten Herkunft, in ihrer Leibessubstanz oder dem Extrakt ihrer Zellen spezifische, oft bei der Injektion toxisch wirkende Körper enthält, mit denen sich im Tierkörper spezifische Antikörper erzielen lassen (wir erinnern an die verschiedenen Lysine), ohne daß es sich dabei um eigentliche krankmachende Eigenschaften jener Zellen im lebenden Zustande handelt, wie bei den Bakterien, so liegt doch die Vermutung sehr nahe, daß das aus den Typhusbacillenleibern durch Zertrümmerung erhaltene vermeintliche Toxin nicht das Gift ist, das bei der tödlichen spezifischen Typhusinfektion die Ursache von Krankheit und Tod ist. Die echten Typhusgifte bleiben sicher nicht in der Leibessubstanz haften, sondern gehen, wie bei Tetanus und Diphtherie, wohl während des Lebens in das Nährsubstrat über.

Es liegt hier wohl nur an der Unzweckmäßigkeit unserer künstlichen Nährböden, daß die Giftgewinnung bei Typhus und der Mehrzahl anderer Bakterien bisher so ergebnislos ist.

Daher erscheint es uns auch verfehlt, durch chemischen oder mechanischen Abbau von Typhusbacillenleibern das in vivo wirkende spezifische Typhusgift gewinnen zu wollen. So erhaltene intracelluläre Toxine sind nur auf die gleiche Stufe wie die im Tierkörper spezifische Lysine bildenden Substanzen anderer selbständiger oder Orgazellen zu setzen.

Nachdruck verboten.

Die Pseudodiphtheriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg.]

Von Dr. Felix Lewandowsky,

früher Assistent am Institut, zur Zeit Volontärassistent an der Hautklinik der Universität Bern.

Systematisch-bakteriologische Arbeiten sind bei unseren heutigen unvollkommenen Kenntnissen von der feineren Morphologie der Bakterien stets ein schwieriges Unterfangen. Hat sich doch noch bisher keines der vielen Systeme der Bakterien Geltung verschaffen können. Denn

weder über das Prinzip der Grundeinteilung noch über die Stellung der einzelnen Gruppen zueinander konnte man sich verständigen. Noch schwieriger, ja fast unmöglich scheint es häufig, innerhalb der größeren Gruppen eine Scheidung in Arten und Unterarten vorzunehmen, und der Botaniker würde wohl einstweilen darauf verzichten, wenn nicht die praktische Medizin das größte Interesse daran hätte, eine möglichst scharfe, botanisch wenigstens einigermaßen begründete Trennung durchgeführt zu sehen. Denn der Mediziner ist nur zu leicht geneigt, wie der Pharmakologe seine Agentien so die Bakterien nach ihrer Einwirkung auf den Tierkörper einzuteilen. Da aber die hier in Betracht kommenden Charaktere, Virulenz und Giftbildung wie alle physiologischen Eigenschaften mit der erhöhten und herabgesetzten Vitalität den größten Schwankungen unterliegen, so ergeben sich aus einer solchen Einteilung Irrtümer, die für die Diagnose und Prophylaxe der Infektionskrankheiten verhängnisvoll werden können.

Gerade der heutige Stand der Diphtheriefrage ließ es dringend wünschenswert erscheinen, unter den Diphtherie- und den sogenannten Pseudodiphtheriebacillen Ordnung und Klarheit zu schaffen, soweit dies bis jetzt überhaupt möglich ist. Dazu bedarf es außer einer Uebersicht und Revision der stattlichen Diphtherie- und Pseudodiphtherie-Literatur eines eigenen in langjähriger Erfahrung gesammelten Beobachtungsmaterials. Ein solches stand mir zur Verfügung in den mir von Herrn Prof. E. Levy in liebenswürdigster Weise überlassenen Aufzeichnungen über die Diphtherieuntersuchungen, die in Straßburg seit dem Jahre 1888 teils von ihm persönlich, teils unter seiner Leitung ausgeführt wurden. Hierfür sowie für die Anregung zu dieser Abhandlung spreche ich Herrn Prof. E. Levy an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

Der Begriff des „Pseudodiphtheriebacillus“ stammt von Löffler. Im Jahre 1887, drei Jahre nach Erscheinen seiner berühmten Arbeit über den Diphtheriebacillus, teilt Löffler mit, daß er aus einer Diphtheriemembran neben echten Diphtheriebacillen ein Stäbchen gezüchtet habe, das sich von den ersteren durch sein Wachstum auf Agar und Gelatine und durch das Fehlen jeglicher Pathogenität unterschied. Zur gleichen Zeit und unabhängig von Löffler fand v. Hoffmann-Wellenhof denselben Bacillus 26mal unter 45 Fällen in der Mundhöhle gesunder Personen. Beide Autoren zweifelten nicht daran, daß dieser Mikroorganismus zwar zu derselben Gruppe wie der Diphtheriebacillus gehört, aber eine von diesem zu trennende konstante Unterart darstelle. Beide sprachen auch schon die Vermutung aus, daß es mehrere solcher Unterarten gäbe. Die folgenden Untersucher Beck, Zarniko, Klein bestätigen die Angaben Löfflers und v. Hoffmann-Wellenhofs und schlossen sich ihrer Auffassung über die Stellung der Pseudodiphtheriebacillen an.

Anders gestaltete sich die Frage seit der Publikation von Roux und Yersin aus dem Jahre 1890. Roux und Yersin halten die morphologischen und kulturellen Unterschiede zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen für zu gering, um zwei besondere Arten aufzustellen; es seien alle Zwischenstufen vorhanden, und die Pathogenität sei das einzige charakteristische Merkmal des echten Diphtheriebacillus. Sie definieren also die Pseudodiphtheriebacillen als abgeschwächte resp. avirulent gewordene Diphtheriebacillen. Um dies experimentell zu beweisen, versuchten sie beide Arten ineinander um-

zuzüchten. Es gelang ihnen, virulente Diphtheriebacillen durch Züchtung bei 39,5° so weit abzuschwächen, daß sie sich im Tierversuch als unschädlich erwiesen. Dabei sollen sich auch die Wachstumseigenschaften denen des v. Hofmann-Wellenhof'schen Pseudodiphtheriebacillus genähert haben. Umgekehrt versuchten sie auch Pseudodiphtheriebacillen in Diphtheriebacillen zu verwandeln. Um die Virulenz zu steigern, injizierten sie den Versuchstieren gleichzeitig mit den Bacillen Erysipelstreptokokken; und während Kokken und Bacillen für sich allein nicht im stande gewesen waren, ein Tier zu töten, starben jetzt die Meerschweinchen unter den für Diphtherie typischen Erscheinungen. Roux und Yersin gestehen aber zu, daß ihnen dieser Versuch nur mit solchen Bacillen glückte, die noch eine gewisse Virulenz besaßen; bei völlig avirulenten Bacillen fiel er stets negativ aus. Für die Aetiologie der Diphtherie schlossen Roux und Yersin aus ihren Versuchen, daß die Krankheit zwar meist durch Uebertragung virulenter Bacillen entstände, daß sie aber auch durch Virulentwerden avirulenter Diphtheriebacillen, die für sie ja mit den gewöhnlichen Pseudodiphtheriebacillen identisch sind, autochthon — im modernen Sinne — entstehen könnte.

Die Theorie von Roux und Yersin erwarb sich außerhalb Frankreichs wenig Anhänger. Von namhaften Bakteriologen schloß sich ihr nur C. Fränkel an. Unterstützung erhielt sie dagegen von seiten einiger Ophthalmologen. Daß die sogenannten „Xerosebacillen“, die Reymond-Coloniatti zuerst 1880 beobachtet, Kuschbert und Neisser 1884 ausführlich beschrieben hatten, nicht als die Erreger der Xerose anzusehen seien, war bereits allgemein angenommen worden. Neisser selbst hatte dies in seiner späteren Arbeit aus dem Jahre 1888 zugegeben. Man wußte, daß die Xerosebacillen fast regelmäßig Schmarotzer auch des gesunden Konjunktivalsackes sind und zur Gruppe der diphtherieähnlichen Bacillen gehören. Der erste, der nun die Theorie von Roux und Yersin auf die Xerosebacillen übertrug und diese für abgeschwächte Diphtheriebacillen erklärte, war F. Schanz. Schanz hat die unitarische Anschauung seitdem mit großer Hartnäckigkeit verfochten und seine ersten Aeußerungen über den Gegenstand alljährlich in mehreren Publikationen wiederholt. Seinen Standpunkt teilten A. Peters und O. Pes, während die meisten anderen Ophthalmologen, wie Axenfeld, Heinersdorff, Dötsch, Pflüger, die dualistische Theorie beibehielten. Diese Theorie wurde weiterhin gefestigt durch die eingehenden Untersuchungen von Escherich und die neuen Erfahrungen von Spronck und M. Neisser.

Wir würden uns heute nicht mit der Theorie von Roux und Yersin ausführlich zu beschäftigen haben, wenn sich nicht in neuester Zeit v. Behring in seinem Buche über die Diphtherie wieder ganz auf den Boden jener Anschauung gestellt hätte. Auch ihm genügen die Wachstumsunterschiede zwischen Pseudo- und echten Diphtheriebacillen nicht, um daraus eine Trennung in zwei Arten zu konstruieren. Die Pseudodiphtheriebacillen sind demnach nichts anderes als abgeschwächte oder avirulente Diphtheriebacillen. Da sich nun diese bei einer großen Anzahl gesunder Personen vorfinden — v. Behring fand sie unter 30 Fällen 4mal, Roux und Yersin hatten sogar unter 59 Schülern einer ländlichen Akademie 26 positive Befunde — so schließt v. Behring daraus, daß die bisherigen Anschauungen über die Epidemiologie und Prophylaxe der Diphtherie nicht mehr aufrecht

zu erhalten sind. Wenn nämlich durch Virulentwerden von Pseudodiphtheriebacillen bei vorher gesunden Menschen, die nicht mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen sind, Diphtherie entstehen kann, so haben die heute im Kampfe gegen die Seuche gebräuchlichen Maßregeln, Isolierung und Desinfektion, nur sehr geringen Wert.

Experimentell hat v. Behring den Angaben von Roux und Yersin nichts hinzugefügt; ihm ist es nicht gelungen, Pseudodiphtherie in echte Diphtheriebacillen zu verwandeln. Für eine kritische Würdigung können wir also die Arbeiten von v. Behring und von Roux und Yersin zusammenfassen. Gegen Roux und Yersin hatte nun schon Escherich mit Recht eingewendet, daß sie den morphologischen und kulturellen Unterschieden gar zu wenig Beachtung schenken und viel zu großes Gewicht auf die Pathogenität legen. Denn daß bei echten Diphtheriebacillen in Kulturen nach einiger Zeit die Virulenz schwinden kann, ohne daß die Bacillen ihre charakteristischen Kulturmerkmale einbüßen, ist eine Tatsache, die Löffler bereits im Jahre 1887 gefunden hat. Escherich meint zwar, daß derartig abgeschwächte Bacillen, die im Tierversuche keine Virulenz zeigen, auf den normalen menschlichen Schleimhäuten kaum die geeigneten Existenzbedingungen vorfinden. Neuere Erfahrungen haben aber das Vorkommen solcher avirulenter Diphtheriebacillen auf normalen und erkrankten Schleimhäuten sichergestellt. So haben bei diphtheritischen Rachenerkrankungen Strassburger, Kurth, Kober, Czaplewski Bacillen gefunden, die bis auf die Meerschweinchenpathogenität alle Merkmale der echten Diphtheriebacillen trugen. In zwei Fällen von Lubowski wurde durch Agglutinationsreaktion die Zugehörigkeit der Bacillen zu den echten Diphtheriebacillen festgestellt, ohne daß diese im Tierversuch auch bei Injektion großer Dosen irgendwelche pathogene Wirkungen entfaltet hätten. Die gleichen Bacillen werden von Abbot, von Hallock, Park und Beebe und von Cobbet in einzelnen Fällen auch bei gesunden Personen gefunden.

Diese avirulenten Diphtheriebacillen haben nun Roux und Yersin von vorneherein mit den Pseudodiphtheriebacillen zusammengeworfen, und manche andere Autoren sind ihnen darin gefolgt. Eine solche Identifizierung a priori ist aber nicht gestattet. Erst bleibt die Frage zu beantworten: Gibt es Mikroorganismen, die im Sinne des Löffler-Hofmann-Wellenhofschen Pseudodiphtheriebacillus den Diphtheriebacillen zwar verwandt sind, aber sich durch konstante botanische Eigentümlichkeiten von diesen unterscheiden? Müssen wir diese Frage verneinen, so hat damit der „Pseudodiphtheriebacillus“ in der bakteriologischen Nomenklatur jede Berechtigung verloren, denn es ist sinnlos, avirulente Modifikationen einer Art besonders zu benennen. Kommen wir aber zu einer positiven Entscheidung der Frage, so erhebt sich eine zweite: Stellt der Pseudodiphtheriebacillus eine botanische Einheit dar? Um die Antwort zu finden, bedarf es noch einmal einer genauen Prüfung und Uebersicht über die morphologischen, kulturellen und physiologischen Eigenschaften der in Frage kommenden Mikroorganismen. Wir haben also zunächst Pseudodiphtheriebacillen des Rachens, die den v. Hofmann-Wellenhofschen entsprechen, und die des Auges vom Typus Kuschbert-Neisser mit den echten Diphtheriebacillen zu vergleichen. Der Kürze halber bezeichnen wir

die beiden Typen vorläufig als Pseudodiphtheriebacillen und als Xerosebacillen.

Das größte Gewicht wäre natürlich auf etwaige morphologische Besonderheiten zu legen. Konstante mikroskopisch nachweisbare Differenzen würden entscheidend sein. Aber da sich bis heute die Morphologie der Bakterien nur auf die Kenntnis der groben äußeren Zellumrisse beschränkt, und wir von dem feineren Bau dieser Organismen so gut wie gar nichts wissen, so ist hier am wenigsten, Klärung zu erwarten. Wären wir auf die morphologischen Unterscheidungen angewiesen, so hätten wir kaum den zehnten Teil der heute bekannten Bakterienarten; müßten wir doch ganze Gruppen, wie die Typhus-Coligruppe samt den Fleischvergiftungsbacillen als eine einzige Art ansehen. — Nun geben allerdings mehrere Forscher morphologische Differenzen zwischen Pseudo- und echten Diphtheriebacillen an. Die Pseudodiphtheriebacillen sind meist kürzer, plumper und dicker als die wahren Diphtheriebacillen. Kurth hält ein Verhältnis der Länge zur Breite von mindestens 5:1, noch besser 7:1 für charakteristisch für den echten Diphtheriebacillus, während bei den Pseudodiphtheriebacillen der Unterschied stets geringer ist. In der Tat sind die dicken, plumpen Formen der Pseudobacillen des Rachens in ganz jungen Kulturen so charakteristisch, daß man sie fast mit Sicherheit von den echten Diphtheriebacillen unterscheiden kann. Aber dies Merkmal verliert sich mehr und mehr mit dem Alter der Kulturen und läßt bei den Xerosebacillen völlig im Stich, da sie an Schlankheit und Zartheit der Formen den Diphtheriebacillen nicht nachstehen. Nicht mehr Wert hat der Unterschied in der Lagerung der Stäbchen, die bei frischen Pseudodiphtheriekulturen nicht so typisch ist wie bei gleichalterigen echten Diphtheriebacillen. Auch sind V-Formen bei den Pseudobacillen seltner. Daß die Verzweigungen, die man zuerst beim echten Diphtheriebacillus gefunden hat, für diesen typisch sein sollen, hat sich als irrtümlich herausgestellt, da auch Pseudodiphtheriebacillen verzweigte Formen bilden.

Richtiger als an dieser Stelle würde man vielleicht bei den biologischen Eigenschaften das Verhalten der *Babes-Ernst*schen Körper besprechen, Da es aber nur durch das Mikroskop wahrnehmbar ist, mag man es auch den morphologischen Merkmalen anschließen. In älteren Kulturen unserer Bacillengruppe zeigen bekanntlich die verschiedenen Teile des Bacillenleibes den Farbstoffen gegenüber ein differentes Verhalten. Der Farbstoff wird von körnchenartigen Gebilden an den Enden des Bacillenkörpers — Polkörnern oder *Babes-Ernst*schen Körpern — intensiv aufgenommen, während die zwischenliegenden Teile nur schwach gefärbt erscheinen. Ueber die eigentliche Bedeutung dieser Körnchen ist man noch im unklaren. Die ursprüngliche Annahme, daß es sich um sporenartige Gebilde handle, hat man aufgegeben, da sie sich tinktoriell und biologisch nicht wie die bisher bekannten Sporen verhalten. Noch weniger begründet ist es, sie als Zellkerne anzusprechen. Mit der Virulenz haben sie sicher nichts zu tun, denn in alten Diphtheriekulturen, in denen die Virulenz erloschen ist, finden sie sich gerade so zahlreich wie in vollvirulenten Kulturen. Es bleibt einstweilen nichts anderes übrig, als sie für paraplasmatische Einschlüsse, abgelagerte Stoffwechselprodukte oder Reservestoffe, vielleicht auch als eine Degenerationserscheinung anzusehen. Diese Körnchen treten nun bei den echten Diphtheriebacillen bedeutend früher auf — in den ersten

24 Stunden — als bei den verwandten Typen. Schon 1895 gab Cronch an, daß dieser Unterschied charakteristisch sei und brachte die Körnchen durch Färbung mit 1-proz. Methylgrünlösung zur Darstellung.

M. Neisser hat dann 1897 eine Methode publiziert, welche die Körnerbildung besonders deutlich macht, eine Doppelfärbung mit essigsaurem Methylenblau und Vesuvin. Es werden dadurch die Körnchen tiefblau, die zwischenliegenden Teile hellbraun gefärbt. Diese Färbung soll nun bei der Betrachtung der Kolonien auf einer von 18—24 Stunden ausgestrichenen Serumplatte eine sichere Differentialdiagnose zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen ermöglichen, da die letzteren keine Doppelfärbung geben. Es ist nötig, sich dabei genau an die Vorschriften von Neisser zu halten. Das Wesentliche ist, daß die Prüfung innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Ausstrich vorgenommen wird. Später zeigen auch Xerose- und Pseudodiphtheriebacillen eine Doppelfärbung, wenn auch dann noch Form, Größe und Lagerung der Körnchen einen Unterschied von den echten Diphtheriebacillen erkennen lassen. Die Körner sind dann von unregelmäßiger Größe, mehr kreisrund im Gegensatz zu den ovalen Körnern der Diphtheriebacillen, sie überschreiten nie den Breitendurchmesser des Bacillus und sind häufig dicht aneinander gelagert. Von 30 Autoren, die sich mit der Prüfung der Neisserschen Methode beschäftigt haben, sehen 25 ihren positiven Ausfall als charakteristisch an für echte Diphtheriebacillen. Nur gibt Kurth an, daß er drei echte Stämme gezüchtet habe, die die Neissersche Doppelfärbung nicht gaben. Die anderen Autoren, die mit der Neisserschen Doppelfärbung schlechte Resultate gehabt hatten, berufen sich hauptsächlich darauf, daß ihr positiver Ausfall nicht immer mit dem Tierexperiment übereingestimmt habe. Wir werden später sehen, daß dies mehr gegen den diagnostischen Wert des Tierversuches als gegen den der Neisserschen Methode spricht. Wenn Schanz andererseits einwendet, daß das eigenartige Verhalten der Diphtheriebacillen eine durch längeres Fortkommen auf günstigem Nährboden erworbene Eigenschaft darstelle, die nicht als trennendes Merkmal anzuerkennen sei, so kann man dem entgegenhalten, daß das verschiedene Verhalten der beiden Bacillen der Doppelfärbung gegenüber auch bei jahrelang fortgesetzter Züchtung unter gleichen Bedingungen keine Modifikation erleidet.

So bedeutet die Neissersche Methode ein wertvolles Besitztum für die bakteriologische Diagnostik. Den günstigen Resultaten von Bronstein, Auckenthaler, Dötsch, Gabritschewsky, Golowkow, Heinersdorff, Kober, Preisich u. a. entsprechen auch die Erfahrungen, die E. Levy mit der Methode seit ihrer Einführung in die bakteriologische Praxis gemacht hat. In zahlreichen Untersuchungen hat sie überaus befriedigende Ergebnisse gezeitigt, und es ist eigentlich kein Fall hier vorgekommen, in welchem Bakteriologie und Klinik uneinig gewesen wären. Man darf selbstverständlich ebensowenig von dieser wie überhaupt von allen Untersuchungsmethoden das Unmögliche verlangen, daß dieselbe in sämtlichen Fällen einen bindenden Entscheid zu liefern im stande ist. Für die Leistungsfähigkeit der Methode mag immerhin folgender Fall als Beispiel dienen. Prof. E. Levy erhielt einmal aus einer zweifelhaften Angina bei einem einjährigen Kinde die Platten übersät von diphtherieverdächtigen Kolonien, deren Bacillen die Neissersche Färbung nicht

gaben. Hier war der Entscheid schwierig, denn es gehört zu den Seltenheiten, daß die Pseudodiphtheriebacillen auf den Platten das Uebergewicht über die sonstige Mundflora erlangen. Der Krankheitsverlauf, die weitere kulturelle, biologische und experimentelle Prüfung ergaben, daß keine Diphtherie und keine Löfflerschen Stäbchen vorlagen.

Nicht ganz so wertvoll für eine Differenzierung wie die morphologischen Merkmale sind die Wachstumseigenschaften eines Bacillus, die ja Massenwirkungen der morphologischen Charaktere darstellen. Denn sie unterliegen selbst mit geringen Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der Nährboden gewissen Schwankungen, die die vergleichende Beobachtung erschweren. Wenn es sich also darum handelt, nahverwandte Bakterienarten voneinander zu unterscheiden, ist Gleichmäßigkeit in der Zusammensetzung der Nährböden erste Bedingung. Zweitens aber muß man die Bakterien unter den gewöhnlichen, den natürlichen Wachstumsbedingungen möglichst entsprechenden Verhältnissen beobachten. Künstliche Züchtungsprodukte, die durch abnorme Temperaturen und ungeeignete Nährböden erreicht wurden, haben nur einen ganz problematischen Wert. Sie können zwar derartig abgeändert sein, daß sie mit der Ausgangskultur kaum eine entfernte Ähnlichkeit haben. Aber längeres Fortzüchten auf dem günstigsten Medium beim Temperaturoptimum wird die alten Eigenschaften wiederkehren lassen. v. Behring sagt mit Recht, wenn man dem künstlich abgeschwächten Tuberkelbacillus von Courmont und Arloing in der Natur begegnet wäre, hätte man ihn wohl kaum für einen Tuberkelbacillus angesprochen. Man darf aber nicht vergessen, daß der Courmontsche Bacillus, einige Generationen lang auf gewöhnlichem Glycerinagar fortgezüchtet, wieder die typischen Eigenschaften des Tuberkelbacillus annimmt. Vernachlässigung dieses Gesichtspunktes bei dem Versuche, einen Bacillus in eine andere Art „umzuzüchten“, hat schon zu großen Täuschungen und Enttäuschungen geführt. Zum Vergleich der echten und der Pseudodiphtheriebacillen wollen wir also nur das Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden, Serum, Agar, Bouillon und Gelatine heranziehen. Wenn sich dabei konstante Unterschiede herausstellen, so wird das zu Gunsten einer Trennung der Arten sprechen.

Der elektive Nährboden für den echten Diphtheriebacillus ist das Löfflersche Blutserum. Weder die Pseudobacillen des Rachens noch die des Auges gedeihen darauf so üppig und rasch. Nach 12 Stunden sind die Kolonien der ersteren noch wenig entwickelt, die der Xerosebacillen überhaupt noch nicht, während die echten Diphtheriebacillen schon recht gut gewachsen sind. Aus der Zahl der Kolonien, die ein Mandelabstrich auf einer Serumplatte geliefert hat, einen Schluß auf die Bacillenart zu ziehen, wie dies Roux und Yersin getan haben, ist nicht zulässig. Es ist wohl richtig, daß die Pseudodiphtheriebacillen meist nur in einigen Kolonien vertreten sind. Es kommt aber — wie die oben citierte Beobachtung von E. Levy zeigt — auch vor, daß die Platte mit Kolonien dieser Bacillen übersät ist, genau so, wie man es bei den echten Diphtheriebacillen häufig sehen kann. Die Kolonien bei den Pseudodiphtheriebacillen sind in den ersten 24 Stunden meist kleiner, der Rand weniger gezähnt. Die Farbe ist mehr rein weiß im Gegensatz zu den graugelblichen Diphtheriekolonien. Doch kommen seltener auch gelbe Formen der Pseudodiphtheriebacillen vor. Die Oberfläche ist feucht glänzend, während die der Diphtherie-

kolonien ein mattes Aussehen zeigt. Die Konsistenz der Pseudodiphtheriekolonien ist zerfließlicher, die der echten mehr fest und zusammenhängend. Kresling hat diesen Unterschied folgender Probe zu Grunde gelegt. Wenn man eine Kolonie von Pseudodiphtheriebacillen mit der Platinöse von der Serumplatte abnimmt und mit einem Tropfen Wasser auf dem Deckglas verreibt, so kann man leicht eine homogene Mischung herstellen. Stellt man denselben Versuch mit einer Diphtheriebacillenkolonie an, so ist dies sehr schwer zu erreichen, da zahlreiche kleine Partikelchen zurückbleiben, die sich nicht mit der Flüssigkeit verreiben lassen. — Auch die Reinkultur der Pseudobacillen des Rachens auf Serum zeigt einige Unterschiede von der Diphtheriekultur, die weißlichere Farbe, den feuchteren Glanz, die flachere Wölbung, größere Neigung zum Konfluieren und zur seitlichen Ausbreitung. Die Xerosebacillen unterscheiden sich von den anderen Bacillen der Gruppe, wie bereits erwähnt, durch ihr viel langsames Wachstum; erst nach 24 Stunden sind kleinere Kolonien zu bemerken. Diese vergrößern sich auch später nur wenig, konfluieren nicht, zeigen matte Oberfläche und eigentümlich trockene Konsistenz. — Es sind also zwischen den drei Vertretern der Gruppe auch auf Löfflerschem Blutserum gewisse Wachstumsunterschiede zu konstatieren. Doch sind sie nicht so scharf ausgesprochen und in die Augen fallend, um sie differentialdiagnostisch zu verwerten.

Sehr charakteristisch sind die Differenzen auf Agar, und zwar treten sie deutlicher als auf dem vielfach angewandten glycerinierten auf gewöhnlichem Agar hervor. Auf diesem Medium gedeihen bei weitem am besten die Pseudodiphtheriebacillen des Rachens. Schon nach 24 Stunden sieht man auf der Oberfläche von Agarplatten 1—2 mm große, knöpfchenförmige, weiße Kolonien, die sich nach der Breite zu ausdehnen und auch ein ganz kräftiges Dickenwachstum zeigen. Demgegenüber sind die Kolonien der Diphtheriebacillen nach 24 Stunden noch ganz klein, zart und durchsichtig. Sie nehmen auch später eine viel geringere Ausdehnung an, sind bedeutend flacher und im Gegensatz zu dem feuchten Glanz der saftigen weißen Pseudodiphtheriekolonien mehr grau gefärbt und von matter Oberfläche. Auf schräg erstarrtem Agar bilden die Pseudodiphtheriebacillen einen saftig weißen Belag, der bald das Aussehen einer dicken Leiste annimmt. Diese dehnt sich kräftig nach den Seiten zu aus. Die Diphtheriebacillen zeigen dagegen einen ganz zarten, aus einzelnen nicht konfluierenden, durchsichtigen, grauen Kolonien bestehenden Belag. Im Agarstich bemerkt man bei den Pseudodiphtheriebacillen längs des Stiches nur geringes Wachstum in Form einzelner Kolonien, während sie an der Oberfläche der Kultur üppig wuchsen und bald die ganze Oberfläche als 2—3 mm dicke Scheibe einnehmen. Diphtheriekulturen zeigen niemals ein derartiges Oberflächenwachstum. Die dunkel braunrote Verfärbung des Nährbodens, die, wie Escherich und Prochaska beobachtet haben, bei alten Pseudodiphtheriekulturen eintritt, ist nicht konstant und vielleicht von der Zusammensetzung des Nähragars abhängig, was Escherich selbst zugibt. Bedeutend schlechter noch als die Diphtheriebacillen gedeihen die Xerosebacillen auf gewöhnlichem Agar. Manchmal ist erst nach 3—4 Tagen überhaupt ein Wachstum zu konstatieren. Die Kolonien sind sehr klein, von matter Oberfläche, sehr trocken und mit der Platinöse schwer vom Nährboden abzuheben. Ebenso ist im Agarstich das Wachstum äußerst kümmerlich.

Auch in Bouillon verhalten sich die Pseudodiphtheriebacillen anders als die Diphtheriebacillen. Sie bewirken hier schon nach 24 Stunden eine diffuse Trübung, die in den nächsten Tagen noch bedeutend zunimmt. Außerdem bildet sich ein Niederschlag von Bakterienmassen am Boden des Reagenzglases; selten kommt es zur Bildung eines Häutchens. Nach etwa 3 Wochen hellt sich die Bouillon auf; die Bakterien nehmen dann als kompakter weißer Bodensatz die ganze Kuppe des Reagenzglases ein. Das Verhalten der verschiedenen Diphtheriestämme in Bouillon ist nicht ganz gleichmäßig — Zupnik hat daraus vor allem eine Vielheit der Arten bei Diphtheriebacillus folgern wollen — aber ist stets von dem der Pseudobacillen wohl zu unterscheiden. Die diffuse Trübung ist meist nur sehr gering und hellt sich viel früher — schon etwa nach 10 Tagen — wieder auf als bei den Pseudodiphtheriebacillen. Häufig wachsen sie in Gestalt eines bröckeligen Niederschlages, nicht selten auch als Oberflächenhäutchen. Der Bodensatz ist weniger massig, sondern mehr feinflockig. Etwas schwieriger als die Pseudodiphtheriebacillen sind die Xerosebacillen von den Diphtheriebacillen zu unterscheiden. Sie bilden feine Flöckchen, die oft den Wänden des Glases anhaften und lassen die Flüssigkeit fast immer klar.

Auf Gelatine wachsen die Xerosebacillen meist überhaupt nicht, da sie selbst bei 25° nur ganz kümmerlich gedeihen. Ein zur Gruppe der Xerosebacillen gehöriger, von Gelpke als *Bacillus septatus* beschriebener Mikroorganismus zeigt sogar bei 25° noch keine Spur Wachstum. Bei 20° gedeiht kein Xerosebacillus mehr. Bei dieser Temperatur kommen Diphtheriebacillen gerade eben noch fort. Sie bilden auf Gelatine kleine durchsichtige graugelbe Kolonien. Für sie liegt das Temperaturminimum bei ca. 18°. Die Pseudodiphtheriebacillen hingegen wachsen selbst bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ganz gut und bilden auf Gelatine einen üppigen gelblichen Belag; erst bei 10° hört jedes Wachstum auf.

Mit den Wachstumstemperaturen sind wir schon zur Besprechung der biologischen Eigenschaften übergegangen. Sie stehen in der Bewertung für die Differentialdiagnose noch einen Grad unter den Kulturmerkmalen. Denn die Lebensäußerungen der Bakterien, wie sie in der Bildung von Fermenten, Ausscheidung von Stoffwechselprodukten u. a. hervortreten, sind in Qualität und Intensität von Zufälligkeiten des Milieus noch abhängiger als die Wachstumseigenschaften. Als bemerkenswerter Unterschied wird von vielen Autoren angegeben, daß die Pseudodiphtheriebacillen ein größeres Sauerstoffbedürfnis zeigen als die echten Diphtheriebacillen. Sie wachsen bei Sauerstoffabschluß entschieden schlechter als die letzteren. Sehr viel ist allerdings aus dieser Differenz nicht zu machen.

Als Kardinalunterschied zwischen den fraglichen Mikroorganismen hat man von Anfang an die Aenderung der Reaktion in alkalischer Traubenzuckerbouillon angesehen. In einer solchen Bouillon bilden nämlich die echten Diphtheriebacillen schon nach 24 Stunden nicht unbeträchtliche Säuremengen. Die Pseudodiphtheriebacillen hingegen erhöhen in den meisten Fällen die Alkaleszenz der Bouillon. Die Xerosebacillen verändern meist die Reaktion gar nicht, bilden aber auch zuweilen geringe Mengen Säure. Da nun die quantitativen Differenzen in gewissen Grenzen schwanken, so ist es notwendig, einen empfindlichen Indikator zu verwenden. Die gewöhnliche Lackmus-

tinktur ist gegen Säure zu unempfindlich, um eine kleinere Menge anzuzeigen. M. Neisser hat deshalb die Titration der Bouillonkultur mit 1-proz. Natronlauge und Phenolphthalein eingeführt. Durch dieses Verfahren hat er gezeigt, daß die echten Diphtheriebacillen stets mehr Säure bilden als die verwandten Arten. Es ist also die Säurebildung ein differentialdiagnostisch wohl brauchbares, nach Neisser und Schabad sogar das konstanteste Merkmal. Die gegenteiligen Beobachtungen sind zum großen Teil auf unzulängliche Methoden der Säurebestimmung zurückzuführen. Nur Kurth beschreibt einen „*Bacillus pseudodiphtheriticus acidum faciens*“, der ebensoviel Säure bildete als die echten Diphtheriebacillen. Es finden sich aber in der übrigen Literatur keine analogen Angaben.

Neuerdings haben Bronstein und Grünblatt versucht — in ähnlicher Weise, wie es bei der modernen Differentialdiagnose zwischen Coli- und Typhusbacillen angeführt wird, — durch die Säurebildung Diphtheriebacillen von Pseudodiphtheriebacillen zu trennen. Sie bedienen sich dabei eines Reagens, das Mankowski schon vor 3 Jahren eben zur Unterscheidung von *Bacterium coli* und *typhi abdominalis* angewandt hat. Es ist ein Gemisch zweier Lösungen, einer Lösung von Säurefuchsin neutralisiert durch 1-proz. KOH-Lösung und einer Lösung von Indigokarmin. Diese Flüssigkeit ist äußerst empfindlich gegen Reaktionsveränderungen. Die bei neutraler Reaktion blaue Farbe wird durch Säure in rote, durch Alkali in grüne Farbe umgewandelt. Die Verwendung des Reagens erfordert eine besonders sorgfältige Herstellung der Bouillon, die gegen das Reagens neutral reagieren muß. Sie ist deshalb in der Praxis vielleicht ein wenig umständlich und kann auch nicht etwa an die Stellung der Neisserschen Doppelfärbung treten, da ja die Bouillon von einer fraglichen Kolonie aus geimpft werden muß und so bis zur Stellung der Diagnose mindestens 48 Stunden vergehen würden. Wenn es sich aber darum handelt, die Zugehörigkeit einer Reinkultur zu der einen oder anderen Gruppe festzustellen, kann sie neben der Neisserschen Methode und der Betrachtung der Kultureigenschaften recht gute Dienste leisten.

Zu den physiologischen Eigenschaften gehört auch die Virulenz, ist aber von allen für die Diagnose schon deshalb die unzuverlässigste, weil wir uns zu ihrer Erkennung des unsichersten Reagens, des Tierkörpers, bedienen müssen. Und dann wird ja die Pathogenität, die doch wohl meist eine komplizierte Tätigkeit und ein Zusammenwirken verschiedener physiologischer Fähigkeiten des Bakterienorganismus darstellt, von allen schädigenden und entwicklungshemmenden Momenten am stärksten beeinflußt. Es ist also von vornherein verkehrt, den Tierversuch bei der Diagnose für ausschlaggebend zu halten, wie das bisher von vielen Autoren geschehen ist. Das Tierexperiment ist nur bei positivem Ausfall beweisend. Das heißt: wenn das geimpfte Tier zu Grunde geht und die Sektion den typischen Befund ergibt, Infiltration der Impfstelle, Pleuraexsudat, Nebennierenhyperämie, wenn ferner — das ist besonders zu betonen — auch die Kulturfiltrate dieselbe pathogene Wirkung haben, so ist die Diagnose „Diphtheriebacillen“ sicher. Denn wir kennen keinen Pseudodiphtheriebacillus, der die genannten Erscheinungen hervorbringt oder lösliche Toxine bildet. Sollte aber einmal ein Pseudodiphtheriebacillus gefunden werden, der pathogen ist und lösliche Toxine bildet, so würde damit die Identität von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen noch

keineswegs erwiesen sein, wenn die Toxine dieses Bacillus nicht vom Diphtherieantitoxin neutralisiert werden. — Es ist aber vorläufig wenigstens nicht anzunehmen, daß ein solcher Bacillus existiert. — Der negative Ausfall des Tierexperimentes entscheidet gar nichts, denn es kann sich ebensogut um avirulente Diphtherie- als um Pseudodiphtheriebacillen handeln.

Die Pathogenität mangelt übrigens nicht allen Pseudodiphtheriebacillen. Eine große Anzahl — nach Spronck alle — rufen an der Injektionsstelle Infiltrate hervor, deren Stärke allerdings erheblich variiert. Ferner ist ein zur Pseudodiphtheriegruppe gehörender Mikroorganismus von E. Levy und Fickler unter dem Namen *Corynebacterium lymphae vaccinalis* beschrieben worden, der für Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Mäuse pathogen ist. Der Bacillus ruft Abscesse und chronische Eiterungen hervor. Seine Filtrate sind jedoch selbst in großen Mengen völlig wirkungslos. Manche Autoren haben nach Injektion von Pseudodiphtheriebacillen bei den Versuchstieren langsames Abmagern, Marasmus und Tod nach mehreren Monaten beobachtet. Das sind aber doch wohl nur ganz vereinzelte Vorkommnisse, deren Bedeutung noch nicht recht aufgeklärt ist. Auch erwies sich diese Eigenschaft eines Pseudodiphtheriestammes niemals als konstant, sondern derselbe Stamm, der bei einem Tier die genannten Erscheinungen hervorrief, war für viele andere völlig unschädlich.

Wenig klar ist bisher die Rolle der Pseudodiphtheriebacillen in der menschlichen Pathologie. Warnecke fand Pseudodiphtheriebacillen bei 3 Fällen von Otitis media im Eiter in Reinkultur; bei einem dieser Fälle, in welchem sich an die Otitis eine Meningitis und metastatische Lungenabscesse anschlossen, wurden auch hier die Bacillen gefunden. Kruse und Pasquale züchteten einen als *Bacillus clavatus* bezeichneten Pseudodiphtheriebacillus aus Leberabscessen bei Dysenterie, Sanfelice fand ein ähnliches Bakterium in Pockenpusteln. Ueber die ätiologische Bedeutung konnte in keinem dieser Fälle etwas eruiert werden, da sich die Bacillen im Tierversuch stets als unschädlich erwiesen. Einen accessorischen Befund stellen die Pseudodiphtheriebacillen sicher dar in dem Falle von Ehret, der sie aus Kaverneneiter züchtete, und bei Freymuth und Petruschky, die bei Noma neben echten Diphtheriebacillen auch Pseudodiphtheriebacillen fanden. Daß Xerosebacillen die Erreger des Chalazion sind, wie Deyl und Halà behaupten, wird von Heinersdorff und Axenfeld bestritten, da sie sich auch normalerweise im Sekret der Meibomschen Drüsen finden. Dieselben Autoren halten auch die Versuche von Gelpke für nicht beweisend, der durch Impfung mit dem *Bacillus septatus* Schwellungskatarrh künstlich hervorgerufen haben will.

Für die Frage der Zugehörigkeit der Pseudodiphtheriebacillen zu den echten Diphtheriebacillen war es sehr wichtig zu erfahren, ob es möglich wäre, die ersteren künstlich virulent zu machen. Es sind daher solche Versuche in großer Anzahl und von den verschiedensten Autoren unternommen worden. Das negative Resultat der Experimente von Roux und Yersin haben wir bereits erwähnt. Auch später ist ein ähnlicher Versuch niemals geglückt, wie Escherich, Goldscheider, v. Zupnik, Sudeck übereinstimmend berichten. Das Experiment von de Simoni, der Pseudodiphtheriebacillen auf der Oberfläche alter Tetanusstichkulturen wachsen ließ und sie dabei vorübergehend virulent werden sah, kann man aus leicht begreiflichen Gründen wohl nicht ganz ernst

nehmen. Bei dem Falle von Trumpp, der durch gleichzeitige Injektion von Diphtherietoxin Pseudodiphtheriebacillen tierpathogen gemacht haben will, handelt es sich doch wohl um avirulente Diphtheriebacillen, wofür auch die Säuerung der Bouillon spricht. E. Levy hat Pseudodiphtheriebacillen zusammen mit filtrierten Diphtheriebouillonkulturen Meerschweinchen injiziert und aus den gefallenen Tieren die Bacillen wieder von der Injektionsstelle reingezüchtet und in Betreff einer Virulenzvermehrung nur negative Resultate gehabt; Pseudodiphtheriebacillen durch gleichzeitige Injektion mit Streptokokken virulent zu machen, glückte ihm ebensowenig. Bernheim sah dagegen völlig abgeschwächte echte Diphtheriebacillen durch Züchtung auf Streptokokkenfiltraten wieder virulent werden, während dieser Versuch bei Pseudodiphtheriebacillen stets fehlschlug. Gerade diese Experimente sind geeignet, die Verschiedenheit zwischen avirulenten Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen darzutun.

Einer neuen Weg zur Lösung unserer Frage hat uns die bakteriologische Forschung der letzten Jahre gewiesen. Es handelt sich darum, festzustellen, wie sich die eine Art gegenüber den spezifischen Produkten der anderen, Toxinen, Antitoxinen, Agglutininen u. s. w., verhält. Da erfahren wir denn zunächst, daß es nie gelungen ist, mit Pseudodiphtheriebacillen gegen Diphtherie zu immunisieren. Die Bedeutung dieser Tatsache wird aber dadurch herabgesetzt, daß es auch mit avirulenten Diphtheriebacillen schwer halten dürfte, eine Diphtherieimmunität zu erzielen. Es ist daher aber auch wenig wahrscheinlich, daß, wie v. Behring neuerdings anzunehmen geneigt ist, die Pseudodiphtheriebacillen, nach seiner Theorie = avirulenten Diphtheriebacillen, bei der natürlichen Diphtherieimmunität, die viele Individuen zeigen, eine Rolle spielen. De Martini versuchte Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen in Diphtherieheilserum zu züchten und fand, daß die echten Diphtheriebacillen, gleichgültig ob virulente oder avirulente darin sich nicht entwickelten, während das Wachstum der Pseudodiphtheriebacillen nicht gehindert wurde. Spätere Untersucher haben diese Angaben nicht bestätigen können. Nach Versuchen von Lambotte ist es wahrscheinlich, daß die Immunkörper für Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nicht identisch sind.

Auf der Immunisierung im Tierversuch baute Spronck ein differentialdiagnostisches Verfahren auf. Er ging von seiner Erfahrung aus, daß fast alle Pseudodiphtheriestämme an der Injektionsstelle ein mehr oder weniger bedeutendes Infiltrat erzeugen. Er behandelte nun Meerschweinchen mit Diphtherieheilserum und injizierte dann Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen. Es stellte sich dabei heraus, daß die echten Diphtheriebacillen bei diesen Tieren keinerlei Erscheinungen, auch keine lokalen Infiltrate hervorriefen, sondern reaktionslos aus dem Unterhautzellgewebe verschwanden. Dagegen blieb die lokal-pathogene Wirkung der Pseudodiphtheriebacillen unbeeinflusst. C. Fränkel bestätigte diese Angabe Sproncks und gab zu, daß die Theorie von Roux und Yersin, die er selbst früher vertreten hatte, durch diese Tatsachen erschüttert sei. Ein Schüler Sproncks, Steenmeyer, untersuchte den Pharynx gesunder Kinder auf Diphtheriebacillen in einem holländischen Dorfe, wo seit 10 Jahren kein Diphtheriefall vorgekommen war. Zur Differenzierung von den Pseudodiphtheriebacillen wurde in jedem Falle der Sproncksche Versuch ausgeführt. Er fand 22mal unter 44 Fällen diphtherieähnliche Bacillen, die sich bei dem Versuch

sämtlich als Pseudodiphtheriebacillen erwiesen. Bei einer anderen Reihe von Untersuchungen, die in gleicher Weise in der Stadt Utrecht vorgenommen wurden, fand er unter 41 Fällen 31mal verdächtige Kolonien. Das Sproncksche Experiment ergab, daß von diesen 31 nur 3 aus echten Diphtheriebacillen bestanden, deren Träger nachweislich mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen waren. Die Angaben Steenmeyers bilden ein sehr hübsches Gegenstück zu den Untersuchungen von Roux und Yersin, insofern aus ihnen hervorgeht, daß echte Diphtheriebacillen nur dann im Rachen Gesunder vorkommen, wenn Gelegenheit zur Infektion vorhanden war. Leider ist der Sproncksche Versuch zu umständlich, um in der bakteriologischen Praxis in jedem Falle ausgeführt zu werden, als Beweis für eine Verschiedenheit der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen hat er hohe theoretische Bedeutung.

Weiterhin hat man zur Unterscheidung die Agglutination herangezogen, anfangs mit wenig Erfolg, da man meist das auf gewöhnliche Weise hergestellte Heilserum verwandte. Neuerdings haben die bessere Kenntnis vom Wesen der Agglutination und die ausgebildete Technik des Verfahrens einige sehr interessante Ergebnisse gezeitigt. Da Agglutinine im Tierkörper meist nur dann entstehen, wenn größere Mengen von Bakterienleibern in den Organismus gebracht werden, behandelten E. Neisser und Lubowski auf Anregung von Ehrlich einen Ziegenbock mit Injektion großer Massen von avirulenten Diphtheriebacillen, die sie aus einem Fall von eigenartiger Halserkrankung gezüchtet hatten. Das Serum des Tieres agglutinierte nun die verschiedensten Diphtheriestämme, die sich allerdings nicht gleich stark agglutinabel erwiesen. Auf etwas andere Weise als Lubowski kam Schwoner zum Ziel. Er immunisierte ein Pferd mit 12 verschiedenen virulenten Diphtheriestämmen, deren Kulturen durch Erhitzen auf 62° abgetötet waren. Mit dem Serum des Tieres konnte er 50 echte Diphtheriestämme in höheren Werten (bis 1:10000) agglutinieren. Die Pseudodiphtheriebacillen werden dagegen nur in ganz niedrigen Werten (1:5 oder 1:10) oder überhaupt nicht agglutiniert. Das Serum einer mit Pseudodiphtheriebacillen immunisierten Ziege agglutinierte nur diesen Stamm (1:10000), aber keinen anderen Pseudodiphtherie- oder echten Diphtheriestamm. Die Versuche Schwoners mit dem polyvalenten agglutinierenden Diphtherieserum sind in der Tat höchst bedeutsam, und bieten auch Aussicht bei Herstellung größerer Mengen die Diphtheriediagnose zu vervollkommen.

Das wäre in kurzem das Material, das uns zur Verfügung steht, um die erste Frage zu beantworten: Gibt es Mikroorganismen, die im Sinne des Löffler-Hofmann-Wellenhofschens Pseudodiphtheriebacillus den Diphtheriebacillen zwar verwandt sind, aber sich durch konstante botanische Eigentümlichkeiten von diesen unterscheiden? Was die Pseudodiphtheriebacillen des Rachens anbetrifft, so kann man eigentlich kein Bedenken tragen, die Frage positiv zu entscheiden. Wir haben konstante, morphologische und kulturelle Unterschiede, deutliche Differenzen in den biologischen Eigenschaften und ein ganz charakteristisches Verhalten den spezifischen Körpern gegenüber. Es hieße wirklich, alle bisher gültigen Prinzipien der bakteriologischen Systematik verleugnen, wenn wir diesen Artunterschied nicht anerkennen wollten. Wir müßten dann auch den Typhus- und den Colibacillus für identisch erklären. Wenn man einwendet, daß

eben die Konstanz der Unterschiede nicht feststeht, so zeigt ein Einblick in die Literatur, daß die Zahl der Autoren, die noch heute diese Konstanz leugnen, verschwindend ist gegenüber denjenigen, die auf Grund eigener Untersuchungen übereinstimmend die gleichen konstanten Differenzen feststellen.

Vergegenwärtigen wir uns nochmals, daß eine einwandfreie Umzüchtung der einen Art in die andere nie gelungen ist und daß auch unter natürlichen Bedingungen niemals ein solcher Uebergang sicher beobachtet ist. Denn daß Pseudodiphtheriebacillen zuweilen bei Diphtherierekonvaleszenten in besonders großer Menge gefunden wurden, beweist noch lange nicht, daß sie aus den Diphtheriebacillen entstanden sind. Sind sie doch auch häufig während der Erkrankung neben den Diphtheriebacillen vorhanden und finden vielleicht nach dem Verschwinden der letzteren auf der angegriffenen Schleimhaut besonders günstige Wachstumsbedingungen. Im Interesse der Klarheit wollen wir uns dann noch einmal daran erinnern, daß es unzulässig ist, die Virulenzfrage mit der Artenfrage zu verwechseln. Haben wir einmal eine besondere botanische Art der Pseudodiphtheriebacillen aufgestellt, dann ist es absolut verkehrt, die avirulenten Diphtheriebacillen zu den Pseudodiphtheriebacillen zu rechnen, wie es unter anderen Gromakowsky, Biggs, Park und Beebe, Cobbet und Philipps, E. A. Peters, de Simoniget an haben. Wir müssen vielmehr mit Escherich, Czaplowski, Bernheim, Preisich, Draër, de Martini darauf hinweisen, daß die avirulenten Diphtheriebacillen mit den Pseudodiphtheriebacillen des Rachens gar nichts zu tun haben, daß die letzteren eine besondere Art darstellen und niemals Diphtherie erzeugen können.

Nicht ganz so einfach ist die Entscheidung bei den Xerosebacillen. Sie stehen den Diphtheriebacillen nach ihrer Gestalt und den kulturellen Eigenschaften entschieden näher als die Pseudodiphtheriebacillen des Rachens. Da sie überall im Wachstum hinter den echten Diphtheriebacillen zurückbleiben, haben manche sie als verkümmerte Diphtheriebacillen angesehen. Aber der negative Ausfall der Neisserschen Doppelfärbung, die fehlende Säurebildung und nicht zuletzt ihr Verhalten im Spronck'schen Versuch, das dem der Pseudodiphtheriebacillen gleicht, spricht dafür, daß sie von den echten Diphtheriebacillen zu trennen sind. Nach der Angabe der meisten Autoren sind die Xerosebacillen regelmäßige Schmarotzer der normalen Conjunctiva und finden sich bei der Mehrzahl aller Menschen. Es wäre doch nun sehr unwahrscheinlich, daß, während sich im Rachen gesunder Personen höchst selten Diphtheriebacillen finden, diese auf der Conjunctiva normalerweise vorkommen sollten, wo doch eine Konjunktivaldiphtherie ungleich seltener ist als eine Rachendiphtherie und sogar in den meisten Fällen auf eine solche zurückzuführen ist.

Erklären wir uns so für eine scharfe Trennung zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen, so müssen wir auch logischerweise in den praktischen Fragen der Diphtherieprophylaxe einen anderen Standpunkt einnehmen als v. Behring. Denn wenn die Diphtheriebacillen nur bei Diphtheriekranken und -Rekonvaleszenten und den Personen, die mit diesen in Berührung kamen, gefunden werden — es gilt dies auch für die avirulenten Bacillen — so bleiben Isolierung und Desinfektion immer noch die brauchbarsten Maßregeln im Kampfe gegen die Seuche. Aber selbst wenn wir die unitarische Theorie v. Behring und seine Ansicht von der Ubiquität des Diphtheriebacillus annehmen würden,

könnten wir uns mit seinen praktischen Folgerungen nicht einverstanden erklären. Denn die Erfahrung zeigt, daß in der großen Mehrzahl der Fälle eine Diphtherieerkrankung auf eine andere zurückzuführen ist, und daß nur eine ganz geringe Zahl von Fällen die Deutung zulassen, da etwa avirulente Bacillen spontan virulent geworden wären und gleichsam autochthon Diphtherie erzeugt hätten. Wenn also selbst die meisten Menschen Träger avirulenter Diphtheriebacillen wären, müßte man sie doch vor Infektion mit hochvirulenten Bacillen schützen. Man brauchte ja sonst auch kein Erysipel zu isolieren, weil sich normalerweise bei vielen Menschen Streptokokken finden. Die prophylaktische Behandlung mit Diphtherieheilserum, die v. Behring als einzige richtige Maßregel ansieht, wird sich, so wertvoll sie für die individuelle Prophylaxe ist, volkshygienisch nicht durchführen lassen. Denn man wird doch an keinem Platze, wo Diphtherie auftritt, die ganze Bevölkerung immunisieren können. Die Immunität dauert ja nicht so lange, als wie Diphtheriebacillen sich außerhalb des Körpers lebensfähig erhalten. Wenn aber keine Isolierung stattfindet und die Immunisierung nur auf die Personen aus der Umgebung der Kranken beschränkt bleibt, so werden diese als selbst gesunde Träger virulenter Diphtheriebacillen besonders geeignet sein, die Krankheit zu verschleppen. Der Verbreitung der Krankheit von einem Falle aus wird man daher am besten durch sorgfältige Desinfektion und Isolierung entgegenarbeiten. Wir dürfen gewiß einstweilen nicht hoffen, dadurch die Seuche auszurotten, sondern müssen zufrieden sein, wenn wir in einigen Fällen das Umsichgreifen der Krankheit verhindern. Aber sollen wir auf einen kleinen Erfolg verzichten, weil wir einen großen nicht erreichen können?

Es bleibt zum Schlusse noch die Frage zu beantworten, ob man in der großen Gruppe der diphtherieähnlichen Bacillen eine Einteilung in mehrere Unterarten vornehmen soll. Nach den weiter oben mitgeteilten Unterschieden, die in dem morphologischen, kulturellen und physiologischen Verhalten zwischen den Pseudodiphtheriebacillen des Rachens und den sogenannten Xerosebacillen bestehen, muß man notwendigerweise beide als besondere Arten voneinander trennen. Denn diese Unterschiede sind sicher nicht nur Modifikationen, die etwa derselbe Bacillus, der im Rachen üppig gedeiht, durch die ungünstigen Wachstumsbedingungen auf der Konjunktivalschleimhaut erleidet. Dagegen spricht die Tatsache, daß typische Pseudodiphtheriebacillen neben Xerosebacillen auf der Conjunctiva vorkommen, so daß sich beide gemeinsam auf der Nasenschleimhaut finden, und daß beide bei künstlicher Züchtung ihre besonderen Eigentümlichkeiten konstant erhalten. Schwieriger ist es, zu entscheiden, welches von den vielen in der Literatur unter eigenen Namen beschriebenen Bakterien dieser Gruppe nun wirklich eine besondere Unterart darstellt; denn es handelt sich hier zum Teil um Bakterienstämme, die aus einem einzelnen Fall gezüchtet, unvollkommen beschrieben und von keinem späteren Untersucher mehr beobachtet wurden. Als besondere Unterart möchte ich das *Corynebacterium lymphae vaccinalis* von E. Levy und Fickler ansehen, mit dem wohl der *Bacillus variabilis lymphae vaccinalis* von Nakanishi identisch ist. Denn hier haben wir neben einigen kulturellen Besonderheiten ein ganz eigenartiges biologisches Verhalten im Tierkörper; die pathogene Eigenschaft dieses Bakteriums als Eitererreger können wir, da sie keine quantitative, sondern eine qualitative Verschiedenheit von den virulenten Diphtheriebacillen darstellt, schon bei einer Systematisierung mit in Anschlag bringen. Ob man die Spezifität des *Bacterium septatum* von

Gelpcke anerkennen soll, ist noch zweifelhaft. Die von Gelpcke angegebenen konstanten Abweichungen vom Xerosebacillentypus sind in der Tat winzig und konnten von Heinersdorff und Axenfeld nach gründlicher vergleichender Untersuchungen nicht wahrgenommen werden. Die von Kruse beschriebenen Eigenschaften des *Bacillus clavatus* und die des Besserschen aus *Variola vera* gezüchteten *Bacillus* lassen keine Verschiedenheiten von den gewöhnlichen Pseudodiphtheriebacillen erkennen. Der *Bacillus luteus* von Dolczy-niecki könnte in die Gruppe der diphtherieähnlichen Bacillen gehören, doch ist die Beobachtung vereinzelt, die Schilderung seiner Eigenschaften für die Einreihung in ein System nicht ausreichend. Recht verschieden von den anderen Vertretern der Gruppe — wenn überhaupt zu derselben gehörig — sind der *Bacillus diphtheroides* von E. Klein und der in der Milch gefundene *Bacillus* von Campbell Mc Clure. Beide rufen in der Milch stark saure Reaktion hervor und bringen sie zur Koagulation. Der Kleinsche *Bacillus* verflüssigt außerdem noch Löfflers Blutserum und läßt sich mit gewöhnlichen Anilinfarben nur schwer färben. Sicherlich nicht in unsere Gruppe gehören der „sporogene Pseudodiphtheriebacillus“ von de Simoni und — um einem hier und da auftauchenden Irrtum zu begegnen — der Weekssche *Bacillus* des akuten Bindehautarrhs.

Es zeigt sich also, daß es noch nicht wohl möglich ist, ein vollständiges Bild der diphtherieähnlichen Bacillen zu geben; wir müssen uns einstweilen damit begnügen, den Hauptvertretern der Gruppe ihre Stelle anzuweisen. Alle diese Bacillen bilden in ihrer Gesamtheit — wenn wir uns dem System von Lehmann und Neumann anschließen — die große Gruppe der Corynebakterien. Es ist das jene Gruppe, die zusammen mit den selbständigen Gruppen der Tuberkelbacillen und der Rotzbacillen nach den Untersuchungen von E. Levy und seiner Schüler den Uebergang zu den Strahlenpilzen darstellt. Zur Klärung der Diphtheriefrage würde es nun beitragen, wenn wir eine Aenderung der bisher gebräuchlichen Nomenklatur vornehmen würden und endlich den unglücklichen Namen des „Pseudodiphtheriebacillus“ ganz fallen lassen würden. Den v. Hofmann-Wellenhofschens Bacillen des Rachens, auf den dieser Name ursprünglich angewandt wurde, würden wir entsprechend seiner ubiquitären Verbreitung als „*Corynebacterium commune*“ bezeichnen. An Stelle des unrichtigen Namens „*Xerosebacillus*“ würden wir die Benennung „*Corynebacterium conjunctivae*“ vorschlagen. Ferner hätten wir dann das „*Corynebacterium diphtheriae*“ und den Levy-Ficklerschen *Bacillus*, den wir, da er im Tierexperiment Eiterungen hervorruft, „*Corynebacterium pyogenes*“ nennen könnten.

Nach Zupnik soll allerdings auch der „Diphtheriebacillus“ nur ein Sammelbegriff für mehrere konstant verschiedene Abarten sein. Wir haben uns aber in Uebereinstimmung mit Untersuchungen anderer Autoren, besonders Slawyk und Manicatide, nicht von der Vielheit der Diphtheriebacillen überzeugen können, wenn wir die Eigenschaften der natürlichen Variabilität beachteten. Die Variabilität ist es es ja auch, die bei den so nahe verwandten Arten der Corynebakterien in der Praxis manche Schwierigkeiten verursacht und dann und wann eine Grenzlinie verwischt. Für uns aber handelt es sich nicht darum, eine Anleitung zur praktischen Diagnose zu geben, sondern die theoretische Berechtigung einer Trennung in mehrere Arten zu erörtern.

(Schluß folgt.)

Einige Bemerkungen zu neueren Arbeiten über die Morphologie des Milzbrandbacillus.

Von Dr. phil. A. Grimme, Kreistierarzt, Melsungen.

Die Morphologie des Milzbrandbacillus, des größten der pathogenen Spaltpilze, hat das Interesse der Untersucher schon häufig in Anspruch genommen. Gelegentliche Befunde über eigenartig gestaltete oder gefärbte Zelleinschlüsse gaben dem Beobachter Veranlassung, auch nach einer Deutung solcher Vorkommnisse zu suchen. Jedoch begnügte man sich in fast allen Fällen mit Aufstellung einer Hypothese, wie ja auch andere Erfolge bei nicht streng systematisch durchgeführten Untersuchungen nicht zu erwarten waren. Man vergaß vor allen Dingen, von der genauen Feststellung der Zellstruktur des lebenden, ungefärbten oder ganz matt gefärbten Spaltpilzes auszugehen. Die rohe Einwirkung des Farbstoffes, wie er gewöhnlich bei den zu diagnostischen Zwecken ausgeführten medizinisch-bakteriologischen Untersuchungen zur Anwendung kam, mußte natürlich das Zellstruktur-bild ganz außerordentlich verändern.

Es war daher mit den Befunden vieler Beobachter nichts anzufangen. Nachdem jedoch seit 1897 Arthur Meyer sich der Erforschung des Aufbaues der Bakterienzelle mit großem Erfolge gewidmet und ich 1902 (dieses Centralblatt Abt. I. Bd. XXXII. 1902. Originale.) versucht hatte, diese Befunde mit denjenigen, welche die Bakterien nach Anwendung der gebräuchlichsten Methoden der Bakterienfärbung zeigen, in Uebereinstimmung zu bringen, konnte man für die allerschärfsten, eigenartigen Zellstruktur-bilder eine ungezwungene und mit Sicherheit bewiesene Erklärung abgeben. Um so mehr muß es wundernehmen, wenn in letzter Zeit immer noch Arbeiten auftauchen, deren Autoren z. B., um nur einen Zellbestandteil herauszugreifen, das häufige Vorkommen von Fetttropfen im Protoplasten der Bakterienzelle unbekannt geblieben ist. Arthur Meyer gelang es, bei seinen Untersuchungen über die Reservestoffe der Bakterien (*Flora*. Bd. LXXXVI. 1899. S. 428 u. f.) insbesondere nachzuweisen, daß das in Gestalt von Tröpfchen im Protoplasma auftretende Fett einen häufigen Reservestoff der Bakterien, welcher bei den Sporenbildnern bei Entwicklung der Spore aufgebraucht wird, bildet. Es wurde der Beweis für die chemische Natur jener schon von vielen Untersuchern gesehenen stark lichtbrechenden Kugeln oder „Körner“ nicht nur durch zahlreiche mikrochemische Reaktionen, sondern sogar durch makrochemische Darstellung erbracht. Bei meinen Untersuchungen (1902) fand ich Fetttropfen, welche bei Erdbacillen schon mehrfach von Gottheil (dieses Centralblatt Abt. II. Bd. VII. 1901. S. 430 ff.) festgestellt waren, auch beim Tuberkelbacillus, Timotheebacillus, bei Pseudomonas- und Spirillumarten und wies mit Sicherheit nach, daß die von Bunge (*Fortachr. d. Med.* Bd. XIII. 1895) dargestellten Körner im Milzbrandbacillus nichts anderes als durch besonders eingreifendes Verfahren färbbar gemachte Fetttropfen sind. In der Folgezeit habe ich dies durch Untersuchungen mit den gewöhnlichen Fettreaktionen häufig bestätigt gefunden. Der Milzbrandbacillus speichert Fetttropfen in großer Menge vor der Sporenbildung auf. Es muß deshalb sehr befremden, wenn Dietrich

und Liebermeister (dieses Centralbl. Bd. XXXII. 1902. S. 858), Preisz (ebenda Bd. XXXV. 1904. S. 280 u. f.) sowie Ottolenghi (ebenda Bd. XXXV. 1904. S. 546) die längst bekannte Fettnatur solcher Zelleinschlüsse nicht kennen und insbesondere Preisz in umfangreichen Ausführungen der Bedeutung der fraglichen Kugeln näher zu kommen versucht.

Dietrich und Liebermeister gelang es, in lebenden Milzbrandbacillen durch Einwirkung von 1-proz. Dimethylparaphenylendiamin und von α -Naphthollösung (in 1-proz. Soda) blaue Kugeln sichtbar zu machen. Sie deuten diese Gebilde, welche jene eigenartige Farb-reaktion nur bei Gegenwart von aktivem Sauerstoff zeigen, als Sauerstoffüberträger im Dienste der Bakterienzelle und bezweifeln meine Angaben (1902), daß es sich um Fetttropfen handle, als welche ich die bisher sogenannten Bungeschen Körner der Milzbrandbazillen mit Sicherheit erkannt hatte. Es ist dieser Zweifel erklärlich, da die grundlegenden Meyerschen Arbeiten (s. oben) über die Fettnatur solcher Zelleinschlüsse fast allen Beobachtern unbekannt geblieben waren.

Arthur Meyer (dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903. S. 578) untersuchte die Wirkung des Naphtholblau auf fettführende Bakterien näher und fand, daß es das auffallendste Reagens auf Bakterienfett darstellt.

Preisz behandelt die Milzbrandbacillen zur Sichtbarmachung dieser Körnchen fast ebenso wie Bunge es seinerzeit getan und ebenfalls Mühschlegel (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XV. 1899) durch Anwendung des bei Feststellung der Säurefestigkeit gewisser Bakterien gebräuchlichen Verfahrens, nur mit dem Unterschiede, daß er die von Bunge und Mühschlegel beachtete Vorbehandlung der Präparate fortließ. Es treten dann im Bacillus rote Kugeln und Körnchen in Erscheinung, die tatsächlich, wie ich seinerzeit durch genaue Versuche nachwies, gefärbte Fetttropfen sind. Preisz glaubt ja auch, auf Grund des Lichtbrechungsvermögens der Kügelchen und ihrer Färbbarkeit durch Sudan III annehmen zu dürfen, daß es sich um eine fettartige Substanz handle; eine Annahme, wofür der Beweis, wie aus meinen Ausführungen hervorgeht, schon seit Jahren erbracht ist.

Ottolenghi färbt die Bacillen mit Neutralrot und beobachtet im Protoplasten der Zelle gefärbte, unregelmäßig gestaltete Blöckchen und Fäden, die ungefärbte, lichtbrechende Abschnitte zwischen sich lassen oder einen ebensolchen größeren, in der Zellmitte gelegenen umschließen. Es ist auch dieses Bild leicht zu deuten; die gefärbten Abschnitte sind die Protoplasmaballen und „Fäden“. Zwischen denselben liegen die ungefärbtesten Fetttropfen, welche auch Neutralrot, ebenso wie fast alle anderen Farbstoffe, nicht aufnehmen.

Zur allgemeinen Klärung der Sachlage will ich an dieser Stelle die charakteristischen Reaktionen des Bakterienfettes, welches in Gestalt von Tröpfchen im Innern des Zelleibes auftritt und einen Reservestoff darstellt, der bei Sporenbildnern beim Aufbau der Spore verbraucht wird, noch einmal kurz zusammenfassen:

- 1) Die Fetttropfen sind kugelförmig und stark lichtbrechend.
- 2) Sie färben sich nicht in den gebräuchlichsten Anilinfarbstoffen Fuchsin, Methylenblau, Methylviolett und anderen. Die Fetttropfen erscheinen als weiße Flecke im gefärbten Protoplasten.

3) Sie färben sich in Dimethylamidoazobenzol (Gelblösung nach A. Meyer, 0,4 g : 100 g 95-proz. Alkohol) gelb, in Amidoazobenzolazo- β -naphthol (Sudan III) (0,1 g : 20 ccm 95-proz. Alkohol) rot, in 1-proz. Dimethylparaphenylendiamin + Lösung von α -Naphthol in 1-proz. Soda (Naphtholblau) blau. Es wird zweckmäßig 1 Oese dieser Farbstofflösungen mit 1 Tropfen der wässerigen Bakterienaufschwemmung gründlich vermischt.

4) Eine prägnante Doppelfärbung erzielt man durch Anwendung der Methylenblau-Sudanmethode nach A. Meyer (Protoplast blau, Fetttropfen rot).

5) Die Fetttropfen lösen sich in Chloralhydrat (5 : 2 Wasser).

6) Sie lösen sich nicht in Eau de Javelle im Gegensatz zu allen anderen Zellbestandteilen.

Auf die übrigen Zelleinschlüsse, überhaupt auf die Morphologie des Milzbrandbacillus werde ich einer besonderen Arbeit genauer eingehen. Es soll an dieser Stelle genügen, auf die Fetteinschlüsse in den Zellen vieler Bakterien species noch einmal hingewiesen zu haben in der Hoffnung, daß die falschen Deutungen jener Gebilde in der Literatur mehr und mehr verschwinden werden.

Nachdruck verboten.

Berichtigung zu dem Artikel des H. Dr. D. Ottolenghi: „Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus.“

Von Dr. Vladislav Růžička,

Assistenten am k. k. hygienischen Institute des Prof. Dr. Gust. Kabrhel in Prag.

Bezugnehmend auf die Schlußanmerkung zu der obigen Arbeit von Dr. Ottolenghi, in welcher gesagt wird: „Wie man sieht, bestätigen diese von Růžička bei Anwendung von Methylenblau gemachten Beobachtungen gänzlich einen Teil der von mir bei vitaler Färbung des Milzbrandbacillus mit Neutralrot gemachten“, erkläre ich, daß von einer Bestätigung meinerseits keine Rede sein kann, nachdem meine Arbeit¹⁾, auf welche sich Dr. Ottolenghi bezieht, bereits im Mai 1902 vollendet, in demselben Monate eine vorläufige Mitteilung über dieselbe im Vestnik č. akademie Prag publiziert, die definitive Arbeit der Kaiser Franz Joseph-Akademie der Wissenschaften zu Prag am 12. Dezember 1902²⁾ vorgelegt und im April 1903 im „Archiv für Hygiene“ veröffentlicht wurde, während die obige Publikation Dr. Ottolenghis der Accademia dei Fisiocritici (Siena) erst am 28. Februar 1903 vorgelegt wurde und erst im Februar 1904 im „Centralbl. f. Bakteriologie“ erschienen ist.

Ich bin daher in der Lage konstatieren zu können, daß ein Teil der von mir über die Protoplasmastruktur des Milzbrandbacillus festgestellten Tatsachen von Herrn Dr. Ottolenghi in erfreulicher Weise gänzlich bestätigt worden ist.

1) Ueber die biologische Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhaltes. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVI. 1903.)

2) Wie auch in der Fußnote zu meiner Arbeit im Arch. f. Hyg. ausdrücklich bemerkt ist.

Nachdruck verboten.

Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix- (Actinomyces-)Arten.

[Hygienisches Institut der k. Universität Messina.]

Von Prof. Francesco Sanfelice.

Das Verdienst, durch sorgfältige Durchforschung in das Studium der Streptothricheen Licht gebracht zu haben, gebührt ganz besonders Gasperinis¹⁾ und Rossi-Dorias²⁾ Arbeiten. Vor allem hat ersterer nachgewiesen, daß der im Medium so zahlreich verbreitete Actinomyces albus unter Umständen pathogene Wirkungsfähigkeit erlangt, indem er im Stande ist, im Kinde typische Osteosarkome und im Meerschweinchen Pseudotuberkulose zu erzeugen, ohne daß sich eine Spur von keulenträgenden Filamenten zeigt. Sodann ist festgestellt worden, daß der „Geschwulst“-Tumor- oder zirkumskripte Actinomyces nicht kulturfähig ist, wenn er die von Verdichtung der Myceliumwand herrührende Keulengestalt aufweist. Im Gegenteil gelingt seine Kultur auf gewöhnlichem Wege ohne Schwierigkeit, wenn man zur Aussaat jungen keulensfreien Rasen oder Bacillar- bzw. Torulaformen der Abscesse verwendet. Gasperini leistete ferner den Beweis, daß die Kinderaktinomykose nicht ausschließlich einem sogenannten Actinomyces bovis, sondern mehreren ganz bestimmten Arten dieser Gattung zuzuschreiben ist; als solche isolierte er den Actinomyces albus, Act. sulphureus und Act. luteo-roseus; ferner (aus dem Medium) Actinomyces asteroides und Act. carneus. Letztere beiden Arten sind nicht pathogen, selbst nicht für junge Meerschweinchen, das empfänglichste aller Versuchstiere; dagegen gelang es Gasperini (gleichfalls aus dem Medium) pathogen wirkende Aktinomyceten zu isolieren, die in der Regel diese Eigenschaft nicht besitzen, z. B. Act. aurantiacus. Die Ansicht der englischen Aerzte, daß der Madurafuß weiter nichts als eine Aktinomykoseform und auch diese wahrscheinlich nicht bloß dem Actinomyces ruber zuzuschreiben sei, erhielt ihre Bestätigung. Gasperini brachte auf Hunden anatomisch-pathologische Veränderungen zu Stande, die von Kachexie und Pseudotuberkulose bis zu sarkomatösen Nodulus reichten. Endlich zerstreute er die Unsicherheit, welche über der ätiologischen Identität zwischen Verletzungen mit keulenträgenden Rasen- oder Granuli- und solchen mit einfachen Filamenten noch herrschen konnte.

Rossi-Doria isolierte aus dem Medium 6 Streptothrix-Arten, davon sind zwei, Streptothrix alba und Streptothrix nigra, identisch mit den von Gasperini unter dem Namen Streptothrix Foersteri und Actinomyces chromogena beschriebenen Arten, neu dagegen Streptothrix albido-flava, Streptothrix violacea, Streptothrix carnea und Streptothrix aurantiaca. Die letzteren isolierte Rossi-Doria teils aus der Luft, teils aus dem Wasser

1) Gasperini, Sul potere patogeno dell'actinomyces albus e sui rapporti fra actinomicosi e tubercolosi. (Società toscana di scienze naturali. 1895.) — Nuove ricerche sull'actinomicosi sperimentale. (Ibid. 1896.)

2) Rossi-Doria, Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell'aria. (Annali d'Igiene. 1894.)

(*Str. violacea*) oder aus der Erde (*Str. alba*). Er hatte die Platten im Verlaufe der Monate Dezember 1890 bis September 1891 zu wiederholten Malen exponiert und gefunden, daß alle Jahreszeiten ohne merkliche Differenz ihren Beitrag an *Streptothrix* lieferten. Auf 9 Tiere (5 Meerschweinchen und 4 Kaninchen) verimpft, erwies sich *Streptothrix violacea* nur einmal pathogen. Das am Bauche infizierte Meerschweinchen starb nach 22 Tagen. Sektionsbefund: Das subkutane Bindegewebe normal; Leisten- und Achselhöhlendrüsen vergrößert; kein Feuchtigkeitzuwachs in der Peritonealhöhle und normales Aussehen der Peritoneumoberfläche; dagegen zeigten sich auf der fast um das Doppelte vergrößerten Milz zahlreiche gelbliche Knötchen von der Größe einer Nadelspitze bis zu der einer Erbse, welche — namentlich die größeren — weit über die Oberfläche hervorragten; beim Durchschneiden der Milz ergab sich, daß die Knötchen aus einer hellgelben Substanz von kaseöser Konsistenz bestanden; ebenso zahlreiche und voluminöse Noduli wie die Milz wies auch die Leber auf, einer derselben erreichte sogar die Größe einer starken Kichererbse; während die Nieren in normalem Zustande waren, befanden sich dagegen auf den Lungen dieselben Knötchen, nur in bedeutend geringerer Anzahl und Stärke, wie auf Milz und Leber. In den nach Gramscher Methode gefärbten Puspräparaten ließen sich unter dem Mikroskop ausschließlich Degenerationsformen wahrnehmen, ähnlich wie sie in alten Kulturen auftreten und mit Kokken oder Stäbchen verwechselt werden können. Rossidoria züchtete aus den erkrankten Organen Kulturen von *Streptothrix violacea*. Keine der übrigen *Streptothrix*-Arten, die dieser Autor auf Tiere verimpft hat, zeigte pathogene Eigenschaften.

Petruschky¹⁾ wirft *Streptothrix* mit *Actinomyces*, *Cladothrix* und *Leptothrix* alle in einen Tiegel und bildet eine einzige „Trichomyceten“ getaufte Familie daraus. Nach diesem Autor ist die Species *Actinomyces* charakterisiert „durch die von ihr allein gebildeten Strahlenkranzformen im lebenden Körper“; *Streptothrix* „durch reichliche echte Verzweigung, welliges Wachstum, später Fragmentation und Bildung von Konidienketten, die als Fortpflanzungsorgane dienen, also in diesem Sinne als Sporen aufzufassen sind“; *Cladothrix* „durch falsche Verzweigung, rasche Fragmentation und damit verbundenen Bacillarcharakter älterer Kulturen“; *Leptothrix* endlich weil sie „niemals Verzweigung, niemals Wellenlinien, sondern steife, wenig gekrümmte Fäden, an denen Teilungsvorgänge fast niemals zu erkennen sind, zeigt“.

Dieses Verfahren, einer so zahlreichen Gruppe von Organismen ihre schematische Stellung anzuweisen, wird von Lombardo-Pellegrino²⁾ in dessen neulich erschienenen Werke einer verdienten Kritik unterworfen. In der Tat scheint es angesichts der von Petruschky selbst hervorgehobenen Differenzen etwas gewagt, *Streptothrix*, *Cladothrix* und *Leptothrix* aufs innigste vermengt in einer Familie unterzubringen, besonders in Anbetracht dessen, daß die beiden letzteren Formen eigentlich der Ordnung der Schizomyceten einverleibt werden sollten. Was *Streptothrix actinomyces* oder *Actinomyces bovis* (Gasperini) betrifft, so ist ihre Stellung zum System schon seit langem

1) Petruschky. Die pathogenen Trichomyceten. (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. 1903.)

2) Lombardo-Pellegrino, Di una *Streptothrix* isolata dal sottosuolo. (Rif. med. 1903.)

reguliert, nämlich von dem Augenblicke an, wo die Gruppe von De Toni und Trevisan *Nocardia*, von Sauvageau und Radais *Oospora* genannt wurde; ja noch früher (1885) als Israel die Idee aufstellte, die *Actinomyces* sollte der nächsten Verwandtschaft von *Leptothrix* und *Streptothrix* eingereiht werden.

Actinomyces ist gemäß ihren morphologischen und bei der Züchtung sich offenbarenden Eigenschaften eine wahre und eigentliche *Streptothrix*. Jene Eigentümlichkeit, welche in den Augen Petruschky's eine so große Bedeutung erhielt, daß er sie von den *Streptothrix*-Arten absonderte, ist Specieseigenschaft, die, obwohl charakteristisch und unterscheidend, die Verwandtschaft mit den benachbarten Species nicht aufhebt.

Die Arten von *Streptothrix*, von denen bis heute die besten Beschreibungen vorliegen, sind folgende:

1) *Streptothrix farcinica*; 2) *Streptothrix actinomyces*; 3) *Streptothrix Eppingeri*; 4) *Streptothrix alba*, von Gasperini und Rossi-Doria identifiziert mit der *Streptothrix Foersteri* und der 1., 2. und 3. Almquists; 5) *Streptothrix nigra* (Rossi-Doria) oder *chromogena* (Gasperini); 6) *Streptothrix albido-flava* (Rossi-Doria), vom Verfasser mit der *farcinica* identifiziert; 7) *Streptothrix violacea* (Rossi-Doria); 8) *Streptothrix carnea* (Rossi-Doria); 9) *Streptothrix citrea* (Gasperini); 10) *Streptothrix madurae* (Vincent); 11) *Streptothrix viridis* (Lombardo); 12) *Streptothrix aurantiaca* (Rossi-Doria). Viele andere *Streptothrix*-Arten sind noch nicht identifiziert und erhielten eine nähere Bezeichnung je nach dem Vorkommen in diesem oder jenem pathologischen Erzeugnis, auf diesem oder jenem Tiere, häufig ohne daß der Organismus selbst isoliert und kultiviert worden wäre. So haben wir eine *Streptothrix canis* (Rabe), *Streptothrix caprae* (Silberschmidt), *Streptothrix enteritidis* (Pottien), eine *Streptothrix Gedanensis* I, in einem Lungenabsceß gefunden (Scheele-Petruschky) und *Gedanensis* II seu *candida*, aus einem Sputum herrührend (Petruschky), *Streptothrix Grüberii*, von Hoffmann studiert, *Streptothrix aurea*, von Du Bois Saint-Sévérin bei einem Falle von *Conjunctivitis* mit *Ulcus carunculae lacrymalis* entdeckt und für analog mit *Streptothrix Foersteri* gehalten; eine *Streptothrix*, die Krause als im Pus gefunden beschrieb; *Streptothrix lathridii* (Petruschky) und *Streptothrix japonica*, welche Aoyama und Miyamoto in einem Lungenabsceß nachgewiesen haben.

* * *

Das außerordentlich häufige Erscheinen von *Streptothrix*-Kolonieen auf der Luft ausgesetzten Agarplatten und andererseits die mehrmals gebotene Gelegenheit, aus Krankheitserzeugnissen der Versuchstiere eben solche Kolonien zu isolieren, reiften meinen Entschluß, diese Pilze einer akkuraten Durchforschung zu unterziehen, nicht nur vom Standpunkte ihrer kulturellen Eigenschaften, sondern auch in Hinsicht auf die pathogene Wirkungsfähigkeit.

Das Auftreten der *Streptothrix*-Kolonieen auf Agarplatten fiel mit besonderer Frequenz auf die Sommermonate, während ich ihnen in der kalten Jahreszeit nur selten begegnete.

Den beobachtenden Autoren diene beim Identifizieren der Arten als wesentliches Merkmal die Eigenschaft der *Streptothrix*, in künst-

lichen Nährböden eigentümliche Pigmente hervorzubringen. Nun ist dieses chromogene Vermögen aber höchst veränderlich, so daß die Existenzberechtigung einer Species, streng genommen, nicht von der Färbungsverschiedenheit abhängig gemacht werden darf, welche Kulturbelag und Nährmedium zeigen.

Wird eine *Streptothrix*-Kultur von einer Agarplatte auf die andere oder auf Kartoffeln verpflanzt, so zeigt die heranwachsende Kultur eine bestimmte und eine gewisse Zeit lang konstant bleibende Färbung; auf die Länge aber modifiziert sich dieselbe bei den darauf folgenden Uebertragungen derart, daß sie mit der ursprünglichen Nuance der ersten Kulturen nicht mehr verglichen werden kann. Es ist dies auch nicht zu verwundern, wenn man die zahlreichen Faktoren in Betracht zieht, von denen die Pigmentbildung der Mikroorganismuskulturen abhängt.

Ist aber das Pigment der *Streptothriche*en so mannigfaltigen Veränderungen unterworfen, so liegt seine Unzulänglichkeit als Kriterium zum Identifizieren der Species auf der Hand. Damit ist auch die Erklärung gegeben, warum viele Autoren unter verschiedenen Namen eine und dieselbe Art oder Abart *Streptothrix* beschrieben haben.

Wie beim Klassifizieren vieler Schizomyceten üblich, müssen auch die *Streptothriche*en in Gruppen abgesondert werden, die je einen typischen Spezialrepräsentanten zum Mittelpunkt haben, um welchen sich als Varietäten derselben Art die übrigen Exemplare gruppieren, die von jenem nur durch unbedeutende Modifikationen abstechen.

Von diesem Kriterium ausgehend, gelang es mir ohne große Schwierigkeit, sämtliche *Streptothrix*-Arten, die ich gelegentlich, sei es aus der Luft, sei es aus pathologischen Erzeugnissen, isolierte, gruppenweis zu ordnen.

Die erste von *Streptothrix alba* oder *Actinomyces albus* vertretene Gruppe umfaßt nur ein spärliches Kontingent von Spielarten.

Ihre Tiefenkulturen auf Agarplatten tragen keinen ausgesprochenen Charakter zur Schau; makroskopisch und mikroskopisch ist ihr Aussehen dem der Kolonien jeder anderen *Streptothrix* ähnlich. Wer sich immer mit dem Gegenstande befaßt hat, erkennt schon beim ersten Blick auf eine Agarplatte sofort, ob er unter den Tiefenkulturen *Streptothrix*-Kolonien hat oder nicht. Die weiße Farbe und der leicht verschwommene Kontur — herrührend von feinen, gegen die Peripherie hin verflochtenen Fäden — sind so charakteristisch, daß man diese Kolonien mit Leichtigkeit von denen anderer Mikroorganismen unterscheidet. Zu größerer Sicherheit in der Diagnose genügt es, eine der fraglichen Kolonien mit der Platinnadel zu berühren, läßt sie sich, ohne abzubröckeln, vom Nährboden lostrennen, so ist der sichere Beweis geleistet, daß es sich um eine *Streptothrix* handelt.

Die Oberflächenkulturen auf Agarplatten zeigen in den ersten Tagen ein glanzloses Weiß und bedecken sich in der Folge mit einem von den Rändern nach dem Zentrum vorrückenden kreideweißen Flaum. Dieses Entwicklungsstadium charakterisiert der dieser *Streptothriche*engruppe eigentümliche Geruch.

Bei Strichkulturen auf Agar entwickeln sich in den ersten Tagen Kolonien von weißer oder gräulich-weißer Farbe, die später zusammenfließen und sich eventuell auch mit dem vorerwähnten flaumartigen Beschlag überziehen. Viel rascher als auf Agar geben Strichkulturen auf Kartoffeln weiße, gebranntem Kalk täuschend ähnliche Beläge.

Dieses weiße Pigment kann im Laufe der Zeit und bei mehrmals wiederholtem Verpflanzen so starke Modifikationen erleiden, daß es mit dem der ersten Kulturen keinen Vergleich mehr aushält (welcher Farbenwechsel übrigens nur bei Kartoffelstrichkulturen auftritt). Immerhin behalten die Angehörigen der Streptothrix-Gruppe in der Mehrzahl auch auf Kartoffeln monate- und jahrelang die Eigenschaft, weiß zu pigmentieren. Bei einzelnen aber tritt jener Farbenwechsel ein, auch wenn die ersten Kulturen weißes Pigment lieferten, indem die späteren einen aschgrauen Belag hervorbringen und diese Färbung durch alle darauf folgenden Verpflanzungen beibehalten.

Wieder andere Streptothrix-Varietäten dieser Gruppe gaben bei successivem Uebertragen auf Kartoffeln Beläge, die, anfänglich grünlichweiß, später eine intensiv schwarze Farbe annahmen. Besonders häufig machte ich diese Bemerkung, wenn die Kartoffelkulturen in über der Flamme zugeschmolzenen Röhrcchen aufbewahrt wurden. Doch beschränkt sich dieses Verhalten der Kulturen, im geschlossenen Rohr die Farbe von weiß in schwarz zu ändern, auf wenige Abarten der Streptothrix, während der größere Teil der zur Gruppe zählenden Formen auch im zugeschmolzenen Röhrcchen die Eigenschaft behält, kreideweißen Belag zu geben. Ich bewahre seit Jahren derartige Kulturen auf, die noch immer am Leben und, aufs neue verpflanzt, im stande sind, die gleiche Färbung hervorzubringen. Bei mehrmaliger Wiederholung dieser Experimente unter übereinstimmenden Umständen habe ich stets die Beobachtung gemacht, daß nur einzelne Spielarten die Eigenschaft besitzen, schwarzes Pigment zu liefern.

Stieße nun ein mit diesem Studium beschäftigter Forscher unversehens auf eine dieser aus weiß schwarz gewordenen Kulturen, so könnte es ihm sicher nie einfallen, die Streptothrix alba darin zu erkennen, sondern er würde ohne weiteres eine neue Species daraus machen.

Eine von weiß in schwarz umschlagende Spielart von Streptothrix alba isolierte ich aus dem Aktinomykose-Tumor am Kinnbacken eines Rindes, den mir der Direktor des städtischen Schlachthauses, Dr. Bonora, zugestellt hat. Dagegen gehörte eine Streptothrix alba, die ich als Erreger des Aktinomykosenodulus aus einer Rinderzunge isolierte, der bleibend weißen Belag gebenden Varietät an. Das Gleiche war der Fall mit Pilzen, deren Isolierung aus dem faustgroßen Subkutantumore eines kürzlich in Gemeinschaft mit Dr. Lombardo operierten Hundes erfolgt war; auch diese Streptothrix alba angehörigen Kulturen behalten bis zum heutigen Tage das weiße Belagpigment bei. Die eingehende Beschreibung dieses hochinteressanten Falles — wo es sich um einen Tumor handelt, der anatomisch wie mikroskopisch von einem Myxofibrosarcoma nicht differenzierbar ist — bleibt dem voraussichtlich bis Ende 1904 zum Druck reifen Gesamtwerke über Streptothrix vorbehalten.

Die zweite Gruppe der vorliegenden Pilzart vertritt Streptothrix flava oder Actinomyces flavus.

Ich wählte zum typischen Vertreter derselben Streptothrix flava, weil ich ihr am häufigsten auf den der Luft ausgesetzten Agarplatten begegnet war, und sodann auch aus dem Grunde, weil die aus Kolonien dieser Streptothrix gezüchteten Kulturen bei meinen Versuchen successiver Verpflanzung verschiedenartig gefärbte Varietäten ergaben, welche von einigen Autoren als autonome Species beschrieben worden sind. Tiefenkolonien von Streptothrix flava auf Agarplatten

zeigen den gleichen Anblick wie die der *Streptothrix alba*. Die Oberflächenkolonien erscheinen rund von Gestalt und von gelber glanzloser Farbe. Bei Agarstrichkulturen machte sich die Bildung getrennter Kolonien geltend, die nachher zusammenfließen und einen vielfach gefalteten Belag von intensiv gelber Farbe bilden. Als Oberflächenkultur auf Kartoffeln stellt *Streptothrix flava* eine dicke Faltenhaut dar, die jedoch weniger intensiv gelb gefärbt ist als die Agarstrichkultur. Wird sie während längerer Zeit auf jenem Nährmedium gezüchtet, so trägt diese *Streptothrix* eine große Mannigfaltigkeit von Pigmentveränderungen zur Schau. Unter den Kartoffelkulturen meiner Sammlung gibt es solche, die mit ihrem in der Mitte hellgelben, dem Rande zu so weißen Belag wie *Streptothrix alba* von Rossi-Doria als *Streptothrix albido-flava* beschriebenen Species nicht zu unterscheiden sind; einige scheinen die citronengelbe Farbe mit Gasperinis *Streptothrix citrea* zu identifizieren. Wieder andere, von heller Fleischfarbe, gleichen ganz Kulturen der ebenfalls von Rossi-Doria unter diesem Namen beschriebenen *Streptothrix carnea*. An mehreren dieser Kartoffelkulturen fiel mir auf, daß ihr Pigment aus Gelborange in Orangerot spielte, was ihnen durchaus das Aussehen von *Streptothrix aurantiaca* (Rossi-Doria) bzw. von *Streptothrix Eppingeri* verlieh.

Die gleichen Modifikationen in der Pigmentbildung wie an *Streptothrix flava* beobachtete ich an einigen *Streptothrix*-Kulturen, die seit langer Zeit der Sammlung des Institutes angehören. Darunter befinden sich z. B. mehrere von *Streptothrix nigra* und *Actinomyces chromogena*, welche auf Kartoffeln einen gelben, genau dem von *Streptothrix flava* ähnlichen Belag aufweisen; sowie einige *Streptothrix Eppingeri*-Kulturen, die Kartoffel mit orange- oder hellfleischfarbigem oder korallenrotem Pigment belegen; ein Umstand, der sie gleichfalls von verschiedenen Kulturvarietäten der oben beschriebenen *Streptothrix flava* ununterscheidbar macht.

Aus dem bisher Gesagten geht mit Evidenz hervor, daß die unter dem Namen: *Streptothrix citrea*, *aurantiaca*, *albido-flava*, *carnea*, *nigra* oder *chromogena* und *Eppingeri* beschriebenen Arten der zweiten *Streptothrix*-Gruppe einzuverleiben sind, deren Typus *Streptothrix flava* präsentiert.

Wir werden zur Bestätigung noch später sehen, daß ein morphologischer Charakter von hoher Bedeutung diese sämtlichen Varietäten von *Streptothrix* zu einer einzigen Gruppe vereinigt.

Dritte Gruppe, Typusrepräsentant: *Streptothrix violacea*.

Tiefenkolonien auf Agarplatten: Durchweg ähnlich wie von Gruppe 1 und 2.

Oberflächenkolonien: Stark abweichend, weil durch intensiv braune Farbe ausgezeichnet.

Agarstrichkulturen: Die Kolonien wachsen zuerst getrennt, fließen dann zusammen und bilden einen stark gefalteten und über den Nährboden hervorragenden Belag, dessen dunkelbraune Färbung mit der Zeit ins Grünliche schillert.

Kulturen auf Kartoffeln: Wachsen zu einem eher dünnen amethystvioletten Belag aus. Seit so geraumer Zeit ich diese *Streptothrix*-Art schon züchte, ist mir bis heute nie die mindeste Pigmentveränderung aufgefallen.

Zu dieser Gruppe zähle ich die von Lombardo-Pellegrino aus dem Untergrund isolierte und in dem bereits angeführten Werke beschriebene *Streptothrix viridis*. Wenn auch auf Agarstrichkulturen von *Streptothrix violacea* in der Farbe abweichend, ist das Aussehen der *Streptothrix viridis*, als Strichkultur auf Kartoffeln gewachsen, mit dem der *violacea* ganz identisch.

* * *

Ich glaube, auf der Basis lange Zeit fortgesetzter Beobachtung der selbst gezüchteten *Streptothrix*-Kulturen der Klassifizierung dieser Pilzfamilie in 3 Gruppen ein festes, scharf gegliedertes Gefüge erteilt zu haben. Gelingt es anderen, neue Arten zu kultivieren, deren Pigment von dem oben beschriebenen abweicht, so steht es ihnen frei, noch weitere Gruppen anzufügen. Vor 4 Jahren hatte ich Gelegenheit, aus der Luft *Streptothrix rubra* zu isolieren, die in Flüggés Handbuch kurz beschrieben ist und deren Kolonien sich durch intensiv korallenrotes Pigment auszeichnen. Die betreffende Kultur ging leider verloren und konnte durch Isolieren weiterer Exemplare des Pilzes nicht mehr ersetzt werden. Es ist dies zu bedauern, denn sicher wäre es interessant, durch Fortzucht festzustellen, ob und welcher Pigmentmodifikation die Species fähig ist und, darauf gestützt, zu entscheiden, ob sie als Spielart einer der beschriebenen 3 Gruppen einverleibt oder als Typus einer 4. gelten muß.

So ist es im ferneren angezeigt, daß einer hier noch nicht aufgeführten Art Erwähnung getan werde, die ich vor 5 Jahren aus Zahntartarus isolierte. Das Bild echter Verzweigungen, das der Pilz aufweist, kennzeichnen ihn als *Streptothrix*; vom kulturellen Standpunkt dagegen entfernt er sich von allen übrigen Mitgliedern der Species, und zeigt stattdessen eine Verwandtschaftsähnlichkeit mit dem Erreger der Tuberculosis aviaria. Man könnte diese Form daher als ein Uebergangs- oder Verbindungsglied zwischen Tuberkelbacillen und Streptothricheen halten. Ebensogut darf diese *Streptothrix* aber auch den Typus einer vierten Gruppe darstellen, in welcher die Bacillen der Tuberculosis aviaria, der Rind- und Menschentuberkulose Stellung nehmen würden. Die Kolonien der Spezies auf Agarplatten haben, wie bereits erwähnt, große Aehnlichkeit mit denen aus Tuberculosis aviaria gezüchteten. Aus Agarstrichkulturen wächst sie als gräulich-weißer Belag von wachsamem Aussehen, der mit der Zeit sich vielfach faltet. Von allen übrigen *Streptothrix*-Arten abweichend, zeichnet sie sich, an der Oberfläche von Kartoffeln ausgesät, durch ein recht kümmerliches Wachstum aus, indem die gebildeten, voneinander abgesonderten, kleinen Kolonien auch im Verlauf der Zeit niemals zusammenfließen. Kulturpräparate, die man mit einer Lösung von Fuchsin färbt, zeigen verhältnismäßig kurze Bacillarfäden, von der Dicke der Tuberkelbacillen. Dieselben erreichen nie das Längenmaß der gewöhnlichen *Streptothrix*-Filamente, noch weisen sie die an letzteren oft beobachtete echte Verzweigung oder die ebenso häufig auftretende keulenartige Anschwellung der Fadenenden auf. Einige dieser Bacillarformen nehmen die Farbe nicht in toto, sondern nur streifen- oder punktweise an, was sehr an die Diphtheritisbacillen mahnt.

* * *

Den zahlreichen Forschungen im Verlauf der letzten Jahre verdanken wir die Kenntnis einer Gruppe von Bacillen, die man als „säurefeste“ bezeichnet und nach der gleichen Methode färben kann, welche für Tuberkelbacillen im Usus ist.

Der Leprabacillus ist, wenn auch zu dieser Gruppe gehörig, vom Bacillus der Tuberkulose leicht dadurch zu unterscheiden, daß ersterer in den Geweben nicht vereinzelt, sondern meist intracellulär, in kompakten Klumpen auftritt, der Tuberkelbacillus dagegen vorzugsweise extracellulär ist. Außerdem färbt sich der Bacillus der Lepra, wie wir wissen, in wässriger Lösung der basischen Anilinfarben viel leichter als der der Tuberkulose.

Bedeutend größere Schwierigkeit bereitet die differenzielle Diagnose zwischen Tuberkel- und Smegmabacillen, obwohl beide von Gestalt absolut identisch sind. Bekanntlich findet man die letztere Form im Präputialsack oder zwischen den großen und kleinen Labien; ebenso tritt sie im Cerumen, auf der Cutis, in den Tonsillakrypten, ferner an allen natürlichen Leibesöffnungen und endlich im Zahn und Zungenbelag auf.

Ihr Vorkommen in den Fäkalsubstanzen und im Urin kann leicht zu diagnostischen Irrtümern Veranlassung geben. So fand A. Fraenkel¹⁾ dem Smegmabacillus ähnliche Mikroben im Sputum von Kranken, die an Lungengangrän litten, hielt sie aber für Tuberkulotiker. Sein Erstaunen war nicht gering, als die Obduktion keinerlei Tuberkularerscheinungen nachwies.

Fr. Rabinowitsch²⁾ traf im Auswurf eines an Lungenabsceß Erkrankten säurefeste Bacillen, die „mitunter etwas dicker und länger als Tuberkelbacillen, mitunter auch etwas kürzer“, in Kulturen und auf Tiere verimpft, sich identisch verhielten wie der Butterbacillus. Dieselbe Form entdeckte Marzinowski³⁾ bei einem Bronchitisfall. Auch Lubarsch⁴⁾ fand säurefeste Bacillen im Sputum, bei Krankheitsfällen, wo laut den Resultaten seiner Experimente mit Tierinfektion Tuberkulose absolut ausgeschlossen war — was auch die Obduktion bestätigte.

In 8 Fällen von Ohreiterung bei Kindern entdeckte Cima⁵⁾ nicht weniger als 6mal als Krankheitserreger Bacillen, die der Gabettschen Entfärbung widerstanden. Aehnliche Mikroben traten auch in vereiterten Ovarialcysten und in typhusverdächtigem Stuhle auf.

Zur Unterscheidung der eigentlichen Tuberkulosepilze von allen säurefesten Pseudotuberkelbacillen wurde angeraten, das mit Ziehlschem Karbolfuchsin gefärbte Präparat 10 Minuten lang mit einem Gemisch von 3,0 Salzsäure und 100,00 absolutem Alkohol zu behandeln und sodann behufs Kontrastfärbung mit Methylenblau, zu gleichen Teilen in wässriger und alkoholischer Lösung, nachzufärben.

Nach einem anderen Vorschlag zu demselben Zweck soll das Präparat vorerst mittelst absoluten Alkohol entfettet, sodann ein paar Minuten lang mit Chromsäurelösung (à 5 Proz.) behandelt, wiederholt mit Wasser ausgewaschen und in Karbolfuchsin gefärbt werden; dann schreitet man zur Entfärbung vor, entweder 3 Minuten in verdünnter Schwefelsäure (16-proz.) oder 1—2 Minuten in reiner Salpetersäure; als Kontrast-

1) Fränkel, A., Berl. klin. Wochenschr. 1898.

2) Rabinowitsch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI. Deutsche med. Wochenschr. 1900.

3) Marzinowski, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. 1900.

4) Lubarsch, Deutsche Aerzte-Ztg. 1901.

5) Cima, Arch. ital. otol. Vol. IX. 1900.

farbe dient wie oben halb wässrige, halb alkoholische Methylenblau-lösung.

Die Mehrzahl der Autoren ist darin einig, daß auf den nach solchen Methoden behandelten Präparaten die Tuberkulosekeime in roter, die Smegmabacillen in blauer Färbung erscheinen.

Als säurefest kennen wir gegenwärtig mit hinreichender Bestimmtheit die Bacillen des Smegma und der Lepra, die Milch- und Butterbacillen und die Grasbacillen.

Von den Smegma- und Leprapilzen war bereits oben die Rede, und füge ich, die anderen betreffend, noch einige Worte hinzu.

Petri und Fr. Rabinowitsch beobachteten bei Peritonealinfektion an Meerschweinchen mit Milch oder Butter letalen Ausgang mit pseudotuberkulösen Krankheitserscheinungen und die mikroskopische Untersuchung der pathologischen Erzeugnisse ergab die Gegenwart von Bacillen, die sowohl in ihrem Verhalten gegen Farbstoffe als in der Form mit Tuberkulosekeimen große Aehnlichkeit aufwiesen. Charakteristisch stellt sich ihr Entwicklungsprozeß auf Agar dar. Es bilden sich dicke sahnenartige Beläge, die erst spät orangegelben Farbstoff annehmen und „in sich schrumpfen“. Zu wiederholten Malen durch Tiere geschickt, entwickeln ihre Kulturen sich verschiedenartig, so daß ein trockener, brüchiger Ueberzug entsteht, der einer Tuberkulosekultur auf Glycerinagar sehr ähnelt. Die Bouillonkultur bleibt klar und bedeckt sich mit einer üppigen, gefalteten Membran, gibt einen unangenehmen ammoniakalischen oder dumpfen Geruch von sich und liefert nur geringe Mengen von Indol.

Petri traf diesen Pilz 54mal auf 102 Butterproben; Fr. Rabinowitsch auf 80 Proben 33mal; Santori in Rom fast durchweg in allen; Klein in London nur 5mal auf 100 Proben. Möller beschreibt drei säurefeste Mikroorganismen, die einander etwas ähnlich sind. Der erste, auf dem Timotheusgras („Phleum pratense“) gefundene, hatte große Aehnlichkeit mit dem Tuberkelbacillus; einen zweiten fand er im Kot verschiedener Pflanzenfresser und den dritten, den Möller Grasbacillus II nannte, im Pflanzenstaub auf Futterböden. Im Gegensatz zu den Butterbacillen wachsen diese drei Pilze auf Agar mehr trocken, wenig erhaben und bilden viel früher (am 3. bis 4. Tag) gelblichen bis dunkelorangegelben Farbstoff. Die oberflächlichen Kolonien auf Platten liegen dem Nährboden ziemlich locker auf. Vor allem sind die Möllerschen Mikroorganismen noch weiter säurefest als der Tuberkelbacillus selbst. Grasbacillus II zeichnet sich durch die besondere Leichtigkeit und Reichhaltigkeit aus, mit der er verzweigte Fäden bildet, überhaupt durch seine große Pleomorphie, sowie Beweglichkeit in jungen Kulturen.

Ich hatte Gelegenheit, in Verein mit Dr. Lombardo-Pellegrino den von Fr. Rabinowitsch isolierten und von Král in Prag mir freundlichst zugestellten Bacillus zu untersuchen, wobei ich konstatieren konnte, daß es sich um eine echte Streptothrix handelt. Leider entzogen sich dagegen meinem eigenen Studium die Bacillen Möllers; doch geht aus dessen Beschreibung, besonders was Grasbacillus II betrifft, klar hervor, daß auch hier unzweifelhaft eine echte Streptothrix vorliegt.

Es interessierte mich, auf diese Tatsachen gestützt, das Verhalten aller von mir isolierten Streptothrix-Arten gegen Säuren zu erforschen; daher unterzog ich sie alle, ohne Ausnahme, den für die

Tuberkelbacillen gewöhnlich angewendeten Färbungsmethoden. Dabei stellte sich heraus, daß alle Arten von *Streptothrix*, die nach der Ziehl-Gabbetschen Vorschrift behandelt, Farbe aufnehmen und dem Bleichen durch Schwefelsäure widerstehen, sich auch nach den anderen Methoden färben lassen, die zur Unterscheidung der Tuberkulosebacillen von den Smegmapilzen angeraten worden sind. Keine einzige der Varietäten meiner ersten von *Streptothrix alba* oder *Actinomyces albus* vertretenen Gruppe widersteht der Entfärbung durch Säuren. Ich wiederholte die Versuche unzählige Male, mit jungen wie mit alten, mit auf Kartoffeln wie auf Agar und Bouillon gezüchteten Kulturen, mit solchen, die lange Zeit den gleichen Typus beibehielten wie mit denen, welche Pigmentveränderung der Kulturbeläge aufwiesen: stets mit dem gleichen Erfolg.

Die Arten und Abarten der zweiten Gruppen: Repräsentant *Streptothrix flava* oder *Actinomyces flavus* widerstehen partiell der Entfärbung durch Salzsäure oder Salpetersäure. *Streptothrix flava* und alle ihrer Varietäten, z. B. die *Albido-flava*, die *Aurantiaca*, die *Carnea*, die *Eppingeri* sind nur teilweise säurefest; mit anderen Worten: auf ihren Präparaten, die nach der Ziehl-Gabbetschen oder verbesserten Methoden behandelt wurden, erscheinen einzelne Segmente oder gekörnte Stellen der Bacillen lebhaft rot, der Rest der Fäden blau gefärbt. Der Kontrast der roten Stellen von dem blauen Grund der Filamentmasse fällt sehr ins Auge.

Streptothrix violacea, der typische Vertreter der dritten Gruppe und die derselben angereihte *Streptothrix viridis*, sind in toto säurefest. Ebenso *Streptothrix tartari*, die ich bereits beschrieben habe.

Interessante Untersuchungen Dr. Lombardo-Pellegrinos, die er nächstens publizieren wird, und deren Gegenstand das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen, besonders der Streptothricheen, gegen die gemeinen Fettarten (Butter, Schweineschmalz, Oel) bildet, gelangen zu dem Resultat, daß letztere Bacillen in den Fetten sich nach einiger Zeit in Segmente auflösen, wodurch ihre gefärbten Präparate große Aehnlichkeit mit denen der Tuberkelkeime erhalten. Ferner, daß Streptothricheen, die gezüchtet nicht säurefest sind (gegen Mineralsäuren), durch längeres Verbleiben in Fetten, namentlich in Butter und in Schweinefett, sich jene Eigenschaften aneignen, und auch in dieser Hinsicht den Tuberkulosebacillen ähneln. In diesem Sachbestand wäre die Erklärung für das häufige Vorkommen säurefester Pilze in den physiologischen Sekretionen oder in pathologischen Produkten zu suchen, welche so leicht der Degeneratio adiposa verfallen.

Die Resistenz gegen die Entfärbung durch Säuren ist jungen wie alten Kulturen gemein, nur mit dem Unterschied, daß bei den jungen das rotgefärbte Protoplasma der Länge nach in den Fäden homogen verteilt ist, während in alten Kulturen eine beträchtliche Vakuolenbildung stattfindet und dadurch der Zelleninhalt auf größere oder kleinere Strecken beschränkt oder in größere oder kleinere Körnchen verteilt scheint.

* * *

Sämtliche *Streptothrix*-Arten, die aus der Luft, wie die aus pathologischen Produkten isolierten, wurden zur Prüfung auf ihre Pathogenität auf Versuchstiere übertragen. Der Impfstoff wurde sorg-

fältig vorbereitet, indem man die mit sterilisiertem Spatel von der Agaroberfläche abgeschabten Beläge auf das feinste durch Reiben an der Röhrchenwand in sterilisiertem Wasser verteilte. Diese sehr leichtflüssige Emulsion diente sodann zur — vorzugsweise endovenöser — Infektion von Kaninchen und Meerschweinchen.

Von allen aus der Luft isolierten Streptothricheeren der ersten Gruppe: Typus *Streptothrix alba* verhielten sich nur zwei für Kaninchen und Meerschweinchen pathogen; und diese beiden, obwohl von durchaus übereinstimmendem Aussehen der mikroskopischen Präparate, der Flächenkulturen auf Agar und Gelatine, wie der Strichkulturen auf Agar und Kartoffeln, unterscheiden sich voneinander hinsichtlich ihrer pathogenen Wirkung auf Kaninchen und Meerschweinchen. Die eine, *Streptothrix alba* I, beiden Tierarten endovenös injiziert, erwies sich nur für Kaninchen pathogen, während die andere, *Streptothrix alba* II, sowohl diesen als den Meerschweinchen gesundheitsschädlich war.

Die Tatsache, daß beide pathogenen *Streptothrix* aus der Luft stammten, ist insofern interessant, als andere Beobachter, z. B. Rossidoria, ebenfalls *Streptothrix alba* aus dem nämlichen Medium isolierten, sie aber bei den gewöhnlichen Versuchstieren nicht krankheits-erregend fanden.

Ein Teil der mit *Streptothrix alba* geimpften Kaninchen starb nach 3—4, andere nach 12—13—14 Tagen.

Die Sektion der nach wenigen Tagen verendeten zeigte bedeutende Veränderungen an Lungen und Leber, bestehend in zahlreichen Noduli miliaris; an Nieren und Milz war nichts Abnormales zu sehen, dagegen enthielten die Pleura- und Abdominalhöhlen bemerkenswerte Quantitäten leicht hämatischer Serumflüssigkeit.

Aus den veränderten Organen gezüchtete Kulturen ergaben keine positiven Resultate.

Eine eingehende Beschreibung der Krankheitserscheinungen und der Morphologie der in den Geweben enthaltenen Parasiten wird im Gesamtwerk folgen.

Bei den mehrere Tage (12., 13., 14.) nach der endovenösen Infektion gestorbenen Kaninchen erreichten die in Lunge und Leber erschienenen Knötchen die Größe eines Stecknadelkopfes bis zu der von Hanfsamenkörnern und enthielten im Zentrum Eitersubstanz. An den übrigen Organen war nichts Bemerkenswertes zu sehen. Die Läsionen einiger der Kaninchen lieferten wieder die gleichen *Streptothrix*-Kulturen, die zur Inokulation gedient hatten.

Sämtliche Meerschweinchen, die der Jugularimpfung mit dieser Pilzkultur (*Streptothrix alba* I) unterworfen wurden, überlebten die Infektion.

Streptothrix alba II unterscheidet sich von jener dadurch, daß ihre Pathogenität sich von den Kaninchen auch auf die Meerschweinchen erstreckt.

Der Sektionsbefund der 14—20 Tage nach der endovenösen Injektion gestorbenen Kaninchen war anatomisch wie pathologisch der nämliche wie oben beschrieben wurde.

Von Meerschweinchen starben einige 5, andere 20 Tage, noch andere 30—35 Tagen nach der Jugularinfektion; bei allen fanden sich in Lungen, Leber und Nieren mehr oder weniger große, mehr oder weniger zahlreiche Noduli. Ebenso erschien bei allen die Milz ganz bedeutend vergrößert, doch knötchenfrei.

Die Züchtung von Kulturen aus den erkrankten Teilen, mit Einschluß der Milz, hatte in den meisten Fällen positiven Erfolg.

Aus dem Aktinomykose-Nodulus einer Rinderzunge, deren Besitz ich der Gefälligkeit des städtischen Schlachthausdirektors verdanke, isolierte ich eine morphologisch und kulturell den oben beschriebenen identische *Streptothrix alba* oder *Actinomyces albus*. In die Adern von Kaninchen und Meerschweinchen injiziert, äußert dieser Pilz seine Pathogenität im Verlaufe fast der gleichen Anzahl Tage und mit den nämlichen anatomisch pathologischen Erscheinungen, wie ich es weiter oben angegeben habe.

Das Gleiche gilt für die Kultur einer aus dem Aktinomykosetumor am Kiefer eines Ochsens isolierten *Streptothrix*.

Meine Kulturen solcher, von Aktinomykosetumoren herrührender *Streptothrix*-Arten besitzen in Bezug auf Säurefestigkeit dieselben Eigenschaften wie alle Züchtungsprodukte aus Angehörigen dieser Gruppe, ohne Ausnahme.

Kaninchen und Meerschweinchen, die durch Jugulareinspritzung von *Streptothrix flava*, dem typischen Repräsentanten der zweiten Gruppe, infiziert waren, starben nach 10–14 Tagen, ohne daß die Sektion dem bloßen Auge bemerkenswerte Krankheitserscheinungen offenbarte. Die Annahme, daß in diesem Fall die Tiere der Proteinvergiftung erlagen, ist gestattet.

Was bei vielen Schizomyceten vorkommt, gilt auch für manche *Streptothrix*; die auf verschiedene Art auf Tiere verimpften Proteine sind toxischer Wirkung fähig, was sich zuerst durch starkes Abmagern der Versuchstiere bemerkbar macht, bis sie als Opfer einer schweren Kachexie zu Grunde gehen.

Das gleiche Resultat erzielte ich durch endovenöse Injektion anderer zu derselben Gruppe zählender *Streptothrix*-Spielarten, z. B. *Streptothrix albido-flava* und *Streptothrix nigra* oder *chromogena*.

Die aus der Luft isolierten Exemplare der dritten Gruppe, welche die Eigenschaft besitzen, auf Kartoffeln gezüchtet amethyst-violett und in Agarkultur braun gefärbte Beläge zu geben, erwiesen sich für die damit infizierten Kaninchen und Meerschweinchen konstant pathogen.

Der Tod dieser mit Kulturen von *Streptothrix violacea* endovenös geimpften Tiere erfolgte innerhalb 10–20 Tagen und der Sektionsbefund ergab beträchtliche Krankheitserscheinungen in Gestalt mehr oder weniger großer, mehr oder weniger verbreiteter Noduli, besonders häufig in den Lungenflügeln und den Nieren, seltener in Leber und Milz anzutreffen.

An Strichpräparaten, die mit dem Eiter dieser Noduli auf Objektträgern gemacht und auf Ziehl-Gabbetsche Manier behandelt wurden, sind keine verzweigten Fäden wahrnehmbar, sondern nur kurze intensiv rot gefärbte Bacillarstrecken, was eine große Ähnlichkeit mit den Tuberkelbacillen darstellt. Auch an anderen, vor einigen Jahren in Aktinomykoseknötchen der Rindsleber gefundenen *Streptothrix* hatte ich die Beobachtung gemacht, daß sie, durch Meerschweinchen geschickt, die Eigenschaft erhielten, zerbröckelt in Bacillenform zu erscheinen. Ich führe einige Bruchstücke aus der betreffenden Arbeit¹⁾

1) Sanfelice, Ueber einige Infektionskrankheiten der Haustiere in Sardinien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895.)

an. Bezüglich der mikroskopischen Untersuchung des Nodulieiters von Rindslungen: „Die mikroskopische Untersuchung der frischen Präparate und der mit Ziehl'scher Flüssigkeit gefärbten Deckgläschen-Trockenpräparate ergab das Vorhandensein von verschiedenen langen Bacillen zwischen den Eiterkörperchen.“ Die Kulturen betreffend, schrieb ich: „Auf Agarplatten, welche im Thermostaten bei 37° C gehalten wurden, entwickelten sich nach einigen Tagen zahlreiche Kolonien. Mit bloßem Auge waren sie kaum sichtbar, aber schon bei schwacher Vergrößerung erwiesen sie sich aus einem Flechtwerk von Fäden zusammengesetzt. In den Trockenpräparaten fanden sich, sowohl nach Färbung mit den gebräuchlichen alkoholisch-wässrigen Anilinfarben als auch nach der Methode von Gram, verzweigte Bacillen, vollkommen identisch mit denen, welche die Kolonien des Genus *Streptothrix* zeigen.“ Von den mikroskopischen Beobachtungen der in Meerschweinchen erzeugten Krankheitsprodukte teilte ich mit: „In den frischen und gefärbten Präparaten, die von der Impfstelle, den Lymphdrüsen des Abdomens, den Knötchen des Mesenteriums und der Leber angefertigt wurden, kamen dieselben Bacillen zur Beobachtung wie in den Präparaten von dem Eiter aus den Leberknötchen des Rindes.“

Die aus dem *Tartarus dentium* isolierte *Streptothrix* äußerte für Kaninchen und Meerschweinchen pathogene Eigenschaften, indem sie die gleichen anatomisch physiologischen Veränderungen erzeugte, wie wir sie an Tieren beobachtet haben, die an Infektion durch die anderen *Streptothriche*en zu Grunde gingen.

Einige der isolierten pathogenen Arten wurden auf Hunde verimpft, um zu sehen, ob ihre krankheitserregende Wirkung sich auch bei solchen Tieren geltend mache.

Zwei Hunde hielten Jugularinjektionen mit *Streptothrix alba* I aus, ohne zu sterben.

Das Gleiche war der Fall bei Anwendung von *Streptothrix flava* und der aus Zahntarter isolierten Species.

Ebensowenig pathogene Wirkung auf Hunde besaßen die von Rinder-Aktinomykose tumor stammenden *Streptothrix*-Arten.

Nach der Feststellung der Resistenzfähigkeit des Hundes gegen subkutane Impfung mit einigen pathogenen *Streptothrix* wiederholte ich mehrmals im Laufe eines Monats solche Injektionen und sammelte das Serum, um zu untersuchen, ob dasselbe immunisierende Wirkungsfähigkeit erlangt habe.

Alle diese Versuch zu erwähnten Zwecke, immunisierende Eigenschaften im Serum der mit pathogenen *Streptothrix* behandelten Hunde zu entdecken, endigten mit negativen Resultaten. Es starben ohne Unterschied alle Kaninchen und Meerschweinchen an Jugularinjektion mit pathogener *Streptothrix*, gleichviel ob das Serum der infizierten Hunde oder die pathogene Pilzkultur allein dazu verwendet wurde.

Hinsichtlich aller weiteren Untersuchungen über diesen Gegenstand, die noch in Fortsetzung begriffen sind, verweise ich auf das Gesamtwerk.

Messina, Dezember 1903.

Nachdruck verboten.

Zur Bakteriologie der Ruhr.

[Aus der kgl. med. Klinik zu Königsberg (Direktor:
Geh. Rat Prof. Lichtheim).]

Von Dr. E. Rautenberg.

Seitdem Shiga und Kruse für die in Japan und Westdeutschland herrschende Ruhr einen bestimmten Bacillus als den spezifischen Krankheitserreger nachgewiesen haben, ist dieser Befund für die in der gemäßigten Zone auftretenden Ruhrepidemien überall bestätigt worden. Nur Ostpreußen machte bisher eine Ausnahme hiervon, da die bisherigen Untersucher, Ascher und Jäger, den Ruhrbacillus nicht nachweisen konnten. Bei Aschers Untersuchungen lag der Grund dafür vielleicht in der Beschaffenheit des von auswärts bezogenen Materials. Jäger wies in den Dejektionen seiner Fälle an frischen und fixierten Präparaten Amöben nach und sah diese als die Krankheitserreger an. Er zog aus seiner Beobachtung den Schluß, daß Ostpreußen bezüglich der Aetiologie seiner Ruhrerkrankungen eine Sonderstellung einnehme.

Im Spätsommer und Herbste 1903 herrschte im Südosten Ostpreußens (Kreis Angerburg) eine Ruhrepidemie, und wir hatten Gelegenheit, einen von dort eingeschleppten Fall klinisch zu beobachten.

G. B., 21 Jahre alt, hier in Königsberg Schneiderlehrling, war Ende September auf 2 Tage in seine Heimat gefahren zu dem Begräbnis seines an Ruhr verstorbenen Vaters. 5 Tage später, am 4. Oktober, erkrankte er mit Appetitlosigkeit und heftigen, 2-stündlichen Durchfällen, die seit dem 7. Oktober schleimig-blutige Beimengungen enthielten; dabei bestand mäßiger Tenesmus. — Am 11. Oktober Aufnahme in die Klinik. Die Untersuchung ergab: Blässe, subfebrile Temperatur, Puls 100, Leukocytose 18000. Geringer Milztumor. Hauch Albumen. Tenesmus. Stuhl 9mal täglich, schleimig-eiterig, blutig. Keine Amöben im frischen und fixierten Präparat. — In der Klinik: auf Tanninklysmen Rückgang des Tenesmus und der Anzahl der Stühle. Langsame Entfieberung. Nach derselben leichte eitrige Conjunctivitis und Urethritis ohne Gonokokken. — In der 3. Woche Temperaturanstieg. Anschwellung beider Knie- und des r. Ellenbogengelenkes. Remittierendes Fieber. Punktion des l. Kniegelenkes ergibt getrübbte Flüssigkeit, ausschließlich polynukleäre Zellen und stäbchenförmige Bakterien enthaltend. — Lytische Entfieberung. Sehr langsamer Rückgang der Gelenkschwellungen und der Schmerzen.

Unsere bakteriologischen Untersuchungen bezogen sich auf 1) die Stühle. Aus den schleimig-eiterigen Partien gelang es mir, ein Bakterium zu züchten, das als Dysenteriebacillus identifiziert werden konnte: Keine Eigenbewegung; auf Agar dünnes Flächenwachstum, in Traubenzuckeragar keine CO₂-Entwicklung; Milch gerinnt nicht; Lackmusmolke wird nicht entfärbt; auf Conradi-Drigalski blaue Kolonien. — Agglutination mit hochwertigem Dysenterieserum (von Prof. Kruse freundlichst übersandt) bei Verdünnung 1:4000 positiv. — Das Serum des Kranken agglutinierte in der 2. Krankheitswoche die eigenen Dysenteriebacillen bei Verdünnung 1:320, fremde (aus dem hygienischen Institut überlassene) bei Verdünnung 1:80.

2) Die Gelenkflüssigkeit. *Bacterium coli commune* wächst in Reinkultur. Serumagglutination des Kranken gegen *Bacterium coli* bei Verdünnung 1:640 positiv. Hochwertiges Dysenterieserum agglutiniert bei Verdünnung 1:50.

In dem Eiter der Conjunctivitis und Urethritis waren Bakterien nicht sichtbar. Kulturen wurden leider nicht angelegt. — Es sei darauf

aufmerksam gemacht, daß diese Schleimhautaffektionen zu den selteneren Nachkrankheiten der Ruhr zu gehören scheinen. Ihre bacilläre Aetiologie ist bisher noch nicht erforscht. In einem neulich von Vossius¹⁾ beschriebenen Falle wurden im Eiter stäbchenförmige Bacillen gesehen; Kulturen wurden nicht angelegt.

Unsere Beobachtung ist deshalb bemerkenswert, weil aus ihr hervorgeht, daß die Jägersche Beobachtung nicht für alle ostpreußischen Ruhrepidemien zutrifft, und daß von einer Ausnahmestellung Ostpreußens in dieser Hinsicht prinzipiell nicht gesprochen werden kann. Abgesehen davon, daß eine genügende Erklärung für eine derartige ätiologische Ausnahme fehlen würde, spricht ja auch das klinische Bild unserer Ruhr nicht für eine Verwandtschaft mit der tropischen Dysenterie; vor allem fehlen bei uns die für jene so charakteristischen Leberabscesse.

Ferner waren die postdysenterischen Gelenkaffektionen unseres Patienten durch Sekundärinfektion mit *Bacterium coli* hervorgerufen — eine Beobachtung, die meines Wissens bei der Dysenterie noch nicht gemacht ist.

Für die Ueberlassung des Falles sage ich Herrn Geh. Rat Lichtheim meinen besten Dank.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zum Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen.

Von Dr. **Erich Cohn.**

Nachdem ich meine Versuche mit der von Klein in London entdeckten tierpathogenen Hefe vor Jahresfrist abgeschlossen und ihre Ergebnisse zum Gegenstand zweier in diesem Centralblatt erschienenen Mitteilungen²⁾ gemacht habe, ist es mir jetzt keine angenehme Aufgabe mehr, für denselben Gegenstand, zu dem ich neue Tatsachen nicht beibringen kann, abermals den Raum dieses Blattes und die Nachsicht seiner Leser in Anspruch nehmen zu müssen. Aus diesem Beweggrunde habe ich es auch unterlassen, zu einer ebenfalls im Centralblatt³⁾ veröffentlichten Bemerkung von Herrn Prof. Klein Stellung zu nehmen, worin mir ein Vorwurf daraus gemacht zu sein schien, daß ich seine zu zweit erschienene Arbeit im Local Government Board (Report of the medical officer)⁴⁾ unerwähnt gelassen habe. Ich kann demgegenüber nur mein Bedauern aussprechen, daß diese Publikation, welche meines größten Interesses sicher war, an einer so wenig zugänglichen Stelle zum Abdruck gelangt ist. Da ich mich indessen aus weiter unten zu erörternden Gründen ohnehin veranlaßt gesehen habe, zu dem vorliegenden Gegenstande nochmals das Wort zu ergreifen, so benutze ich gern die sich mir bietende Gelegenheit, um auch auf die Wünsche von Herrn Prof. Klein einzugehen, dessen eben erwähnte Arbeit ich mir inzwischen verschafft habe, und

1) Ophthalmolog. Klinik. 1904. No. 2.

2) Abt. I. Bd. XXXI. No. 15. p. 739 und Bd. XXXIII. No. 9. p. 688.

3) Abt. I. Bd. XXXIV. No. 3. p. 224.

4) För 1900—1901. p. 348.

auf diejenigen darin enthaltenen Punkte hinzuweisen, die nicht schon den Inhalt seiner ersten Veröffentlichung¹⁾ gebildet haben und aus dieser von mir pflichtgemäß referiert worden sind. Ich ergreife diese Gelegenheit um so lieber, als ich dabei zwischen den Versuchen von Klein und den meinen in wesentlichen Dingen Uebereinstimmung feststellen kann. Im Interesse der Leser, denen ich das Nachschlagen meiner Publikationen ersparen möchte, sei es mir gestattet, hier nochmals kurz zu wiederholen, auf welche pathogenen Eigenschaften der in Rede stehenden Hefe ich besonderen Wert gelegt habe. Es war dies einmal ihre außerordentliche Virulenz, insbesondere Mäusen gegenüber, zweitens ihre Fähigkeit, bei größeren Versuchstieren von der Blutbahn aus Entzündungen der Schleimhäute, vor allem der Conjunctiva, zu erzeugen und drittens ihre ausgesprochene Vorliebe für Lokalisation im Gehirn und Rückenmark, wodurch bei Kaninchen und Meerschweinchen Lähmungen der Hinterbeine hervorgerufen und bei Hunden außerdem noch deutliche Gehirnerscheinungen ausgelöst wurden. Die erwähnten Lähmungen hatte Klein schon vor mir an zwei intravenös geimpften Kaninchen beobachtet, und seine spätere Veröffentlichung bringt nun, außer einer Bestätigung desselben Befundes bei zwei neuen Versuchstieren, eine Beschreibung des histologischen Vorganges im Rückenmark, erläutert durch mehrere diesbezügliche Abbildungen. Man ersieht daraus, daß ein in der Clarkeschen Säule lokalisiertes Granulom vorlag, welches das graue Vorderhorn der betreffenden Seite verdrängt und beschädigt hatte. Aehnliche Gebilde fanden sich an Stelle der Spinalganglien und sind ebenfalls abgebildet. In den Schnitten sowohl wie in Ausstrichpräparaten aus Rückenmarkssubstanz und Rückenmarkshäuten, die beide durch hyperämische Beschaffenheit schon makroskopisch aufgefallen waren, konnte Klein die Anwesenheit zahlreicher Hefezellen nachweisen. Die Uebereinstimmung vorstehender Befunde mit den von mir erhobenen möge durch die Anführung eines Satzes, den ich meiner zweiten Veröffentlichung (a. a. O. p. 694) entnehme, erläutert werden. Es heißt da: „Die für unsere Hefe charakteristischen Erkrankungen des Gehirns und Rückenmarks resultierten teils aus meningitischen Prozessen, teils aus einer Durchsetzung der Zentralorgane mit solchen oft nur mikroskopisch wahrnehmbaren Granulomen.“ — Wenn Klein dann weiter berichtet: „Bei beiden Tieren erschienen die Eingeweide normal“²⁾, so entspricht dies wiederum genau meinen, in der ersten Publikation (a. a. O. p. 746) geäußerten Worten: „Während sich bei Kaninchen der Sitz der Hefe fast ganz auf das Zentralnervensystem beschränkte . . . u. s. w.“ — Ueber Erkrankungen von Schleimhäuten findet sich bei Klein nur eine Angabe, nämlich über Einlagerung von Knötchen, bestehend aus Leukocyten und Hefemassen, in die Schleimhaut des Magendarmtraktes. Eine diese Verhältnisse illustrierende Abbildung (Fig. 7 auf Taf. II), welche die Wucherung von Hefemassen in der Mucosa und Submucosa des Ileums zeigt, während von dessen Drüsensubstanz nur noch Reste vorhanden sind, entspricht genau der meiner zweiten Publikation beigegebenen Abbildung 4, auf der nur ein etwas vorgerückteres Stadium des Prozesses, in Form einer Geschwürsbildung, dargestellt ist.

Auf diese nach mehreren Richtungen hin zum Ausdruck kommende

1) Journ. of hygiene. Vol. I. p. 90.

2) Local Government Board report. — A. a. O. p. 351.

Gleichartigkeit der Versuchsergebnisse hinweisen zu können, war mir deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil von anderer Seite neuerdings Untersuchungen und daraus gezogene Schlußfolgerungen veröffentlicht worden sind, welche meinen Angaben und meinen Ansichten widersprechen und mich deshalb zu einer Entgegnung in Form des vorliegenden Aufsatzes veranlaßt haben. Bemerkten muß ich dabei, daß auch die Veröffentlichung, auf welche ich jetzt Bezug nehme, wahrscheinlich niemals zu meiner Kenntnis gelangt wäre, wenn nicht Frau Dr. Lydia Rabinowitsch, der ich hierfür zu Dank verpflichtet bin, die Güte gehabt hätte, mir die betreffende Arbeit zu übermitteln. Es handelt sich um eine aus dem Salomonsenschen Institute in Kopenhagen hervorgegangene „Undersøgelse over patogen gaer“ („Untersuchungen über pathogene Hefe“) betitelte Schrift¹⁾ von Vilh. P. H. Jensen, die zur Erlangung des Doktorgrades und der, wenn ich recht unterrichtet bin, in Dänemark damit verbundenen Venia legendi verfaßt ist. In dieser Abhandlung, welche durchweg mit einer für einen jungen Forscher nicht gewöhnlichen Schärfe der Kritik geschrieben ist, werden unter anderem auch meine beiden oben erwähnten Mitteilungen über die Kleinsche tierpathogene Hefe bei Gelegenheit ihrer Besprechung mit abfälligen Bemerkungen versehen.

Es liegt mir indessen fern, diese mit der Harmlosigkeit des Themas schwer in Einklang zu bringenden persönlichen Angriffe zum Gegenstande einer Diskussion erheben zu wollen; ich will vielmehr nur auf den Inhalt der Jensenschen Arbeit eingehen, der mich nicht minder als der darin eingeschlagene Ton überrascht hat.

Der Verf. kommt nämlich in dem der Kleinschen Hefe gewidmeten Kapitel zu dem Schlusse, daß dieselbe „sowohl im Aussehen, wie in ihren kulturellen Eigentümlichkeiten und ihrer Wirkung auf Versuchstiere“ mit dem Sanfeliceschen *Saccharomyces neoformanis* dermaßen übereinstimme, daß beide für eine einzige Art anzusehen seien. Ja, der Verf. geht noch weiter und erklärt in einer der zusammenfassenden Bemerkungen, welche der kapitelweise erfolgten Abhandlung der einzelnen Hefearten am Schlusse der ganzen Arbeit unmittelbar folgen, die Kleinsche Hefe, die Plimmersche und die wichtigsten der von Sanfelice entdeckten Arten²⁾ alle miteinander für identisch.

Nun habe ich seinerzeit auf Grund meiner Kenntnis der damals vorliegenden Literatur die Behauptung aufgestellt, daß die von Klein entdeckte Hefe von allen bisher beschriebenen Arten verschieden sei, und daher betrachte ich es jetzt als meine eigentliche Aufgabe, gegen die von Jensen vorgenommene Identifizierung dieser Hefeart mit anderen

1) Det nordiske forlag. Kopenhagen (Ernst Bojesen) 1903.

2) Nämlich: Erstens: Eine von Král bezogene, vom Verf. als „Kultur Sanfelice“ bezeichnete Art, die nach Sanfelices eigener Angabe nicht mit dem *S. neoformanis* identisch ist (cf. Sternberg, Zieglers Beitr. Bd. XXXII. Heft 1. p. 83).

Zweitens: Eine von Weis in Boston erhaltene Kultur des *S. neoformanis*, die genannter Forscher seinerseits von Sanfelice erhalten hatte.

Drittens: Die von Sanfelice als *S. lithogenes* beschriebene Art (Kultur ebenfalls von Weis in Boston).

Viertens: Die von Sanfelice aus Adenocarcinom gezüchtete Art (Kultur ebenfalls von Weis).

Fünftens: Die von Sanfelice aus Mammacarcinom gezüchtete Art (Kultur von Král).

NB. Die Plimmersche Hefe hatte Jensen durch Dr. Bulloch von Plimmer erhalten; die Kleinsche Hefe war von Král bezogen.

Sproßpilzen Einspruch zu erheben. Indessen glaube ich meine Behauptung dahin ausdehnen zu dürfen, daß der Verf. auch hinsichtlich der übrigen erwähnten Arten den Beweis der Identität nicht erbracht hat. Denn dazu wäre meines Erachtens eine exakt durchgeführte Gegenüberstellung der betreffenden Hefen hinsichtlich ihrer morphologischen, kulturellen, biologischen und pathogenen Eigenschaften nötig gewesen. Von einer solchen ist jedoch, was die beiden ersten Punkte anlangt, in der Jensenschen Arbeit überhaupt nicht die Rede; denn genauere Angaben über eigene Beobachtungen — und nur solche läßt ja Jensen gelten — finden sich bloß bei der zuerst besprochenen Hefeart, der „Kultur Sanfelice“, während bei den folgenden nur immer wieder versichert wird, daß sie sich im wesentlichen ebenso verhielten. Kleine Unterschiede muß der Verf. allerdings fast immer zugeben, leugnet aber dann deren Bedeutung. Ich möchte demgegenüber die Ansicht vertreten, daß, solange wir die Methoden der Agglutination und Präzipitation — wie erst kürzlich die Arbeit von Schütze¹⁾ gezeigt hat — zur Unterscheidung von Hefearten noch nicht heranziehen können, kulturelle, biologische Unterschiede, wie z. B. Hautbildung auf flüssigen Nährböden, Kolonienform in feuchter Kammer, Wachstum auf Kartoffel, Kapselbildung bei künstlicher Kultur, sehr wohl Beachtung verdienen, und übrigens bei Jensen an ihm genehmer Stelle auch Beachtung finden²⁾. Je mehr aber Sproßpilze, die man in der genannten Hinsicht vergleichen will, einander ähneln, um so minutiösere Untersuchungsmethoden müssen meiner Ansicht nach in Anwendung gebracht werden, um Unterschiede aufzufinden oder eventuell die Berechtigung zu erlangen, die Arten für identisch zu erklären. Solche minutiöse pflanzen-physiologische Untersuchungen sind mit vier derselben Hefearten, mit denen Jensen experimentiert hat — den Hefen von Klein, Plimmer, dem *Saccharomyces neoformans* von Sanfelice und dessen Hefe aus Adenocarcinom — von J. D. Weis in Boston, der die Kulturen alle unmittelbar von ihren Entdeckern erhalten hatte, angestellt worden³⁾, und zwar mit dem Ergebnis, daß Weis erklärt, es beständen zwischen diesen Arten, obwohl sie viele gemeinsame Charakterzüge trügen, doch einige ausgesprochene Unterschiede („some marked differences“)⁴⁾. Gegenüber diesem auf genaueste Untersuchungen gegründeten Urteil kann ich den Untergrund, auf welchem Jensen seine Behauptung von der Art-einheit der Kleinschen Hefe und der anderen genannten aufbaut, keiner schärferen Kritik unterziehen, als wenn ich die Stelle aus seiner Arbeit, worin die botanischen Eigenschaften der Kleinschen Hefe behandelt werden, in deutscher Uebersetzung wörtlich folgen lasse⁵⁾:

„Die angewandte Kultur ist aus dem Králschen Laboratorium verschrieben.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903. p. 423.

2) cf. p. 90 bei Hefe Busse und p. 97/98 bei Hefe Curtis.

3) Weis, Four pathogenic torulae (Blastomycetes). (The Journ. of med. research. Vol. VII. 1902. p. 280.)

4) Dasselbe. (Ibid. p. 289/292.)

5) Im Original (auf p. 72): Den anvendte kultur er forskrevet fra Králs laboratorium.

Saa vel det mikroskopisk udseende som forhold ved farvning og dyrkning paa de forskellige naeringsstoffer viser oeverensstemmelse med det ved *Saccharomyces neoformans* beskrevet.

Kun danner Kleins gaer ligesom adenomgaeren som oftest hinde paa maltvand. ølurt og druesukkerbouillon.

Der viser sig heller ingen tydelig forskel ved de af mig foretagne dyreforsøg.

Sowohl das mikroskopische Aussehen wie das Verhalten bei Färbung und bei Züchtung auf den verschiedenen Nährstoffen weist Uebereinstimmung mit dem bei *Saccharomyces neoformans* beschriebenen auf.

Nur gibt die Kleinsche Hefe, wie auch die ‚Adenomhefe‘, sehr oft Hautbildung auf Malzwasser, Bierwürze und Traubenzuckerbouillon.

Es zeigt sich auch kein deutlicher Unterschied bei den von mir vorgenommenen Tierversuchen.“

(Folgen letztere, auf die ich später noch näher eingehen werde.)

Daß die Kleinsche Hefe nun auch mit den anderen erwähnten Arten identisch ist, ist ja auf diese Weise nach dem Satze: Wenn zwei Größen einer dritten gleich sind . . . mit mathematischer Sicherheit bewiesen!

Nun wird mir Herr Jensen vielleicht entgegenhalten wollen, daß auch ich die botanischen Eigenschaften der Kleinschen Hefe nicht zum Gegenstande eines so eingehenden Studiums gemacht habe, wie der vorhin von mir zitierte Autor. Demgegenüber möchte ich zwei Dinge von vornherein betonen: Erstens, daß meine Angaben mir nicht zum Beweis von Behauptungen für oder wider die Identität der betreffenden Hefe mit anderen Arten, sondern nur zur Charakterisierung des Pilzes dienen sollten; zweitens, daß uns Aerzte — solange nicht andere Fragen, wie z. B. die eben erwähnte, in Betracht kommen — in erster Reihe die pathogenen Eigenschaften eines Mikroorganismus interessieren, und daß diese — worauf ich später noch im einzelnen zu sprechen kommen werde — mir für sich allein schon genügend schienen, um die Sonderstellung der Kleinschen Hefe gegenüber allen vorher beschriebenen Arten zu gewährleisten. Trotzdem habe ich bei zwei Hefearten, deren Verhalten im Tierkörper mir wenigstens Anklänge an das der Kleinschen Hefe zu bieten schien, auch auf kulturell-biologische Unterschiede hingewiesen. Es waren dies die Hefe von Curtis, welche das der Kleinschen abgehende Vermögen der Zuckergärung und der Sporenbildung besitzen soll¹⁾, und die Hefe von Busse, der gegenüber ich — unter Zugrundelegung der Angaben ihres Entdeckers²⁾ — drei Unterscheidungsmerkmale aufgestellt habe. Auf letztere Angabe ist Jensen insofern etwas näher eingegangen, als er die Bedeutung zweier der von mir genannten Unterschiede bestreitet. Was den einen — verschiedene Färbung der Kulturen — anlangt, so will ich Jensen allerdings zugeben, daß ich darauf allein auch kein allzu großes Gewicht gelegt haben würde, im Verein mit anderen Unterschieden jedoch geglaubt habe, auch diesen noch mit anführen zu dürfen. Um so größere Bedeutung war ich versucht der von Busse als „sehr stürmisch“ bezeichneten Gärkraft seiner Hefe beizumessen; allein demgegenüber betont Jensen, daß er das Auftreten von Gärung in seinen Versuchen mit genannter Hefe stets vermißt habe und gibt, unter Hinweis auf die Untersuchungen Sternbergs³⁾, in denen diese Hefe des Gärvermögens ebenfalls entbehrte, sein Urteil dahin ab, daß Busse eine Mischkultur vor sich gehabt haben müsse. Den dritten von mir angegebenen Unterschied — betreffend die Bildung von Sproßverbänden, die bei der

1) Curtis, Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. p. 449.) — cf. auch Busse, p. 87 u. 90.

2) Busse, Die Hefen als Krankheitserreger. p. 16. Berlin (August Hirschwald).

3) Sternberg, Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. (Ziegler's Beitr. Bd. XXXII. Heft 1. p. 1.)

Busseschen Hefe auch in künstlichen Kulturen auftrat, während sie bei der anderen Art von Klein und mir nur im Tierkörper beobachtet wurde — hat Jensen der Erwähnung nicht für wert befunden. Nichtsdestoweniger bekennt sich Jensen aus anderen, hier nicht näher zu erörternden Gründen doch auch zu der Ansicht, daß die Bussese Hefe eine von der Kleinschen und den übrigen verschiedene Art sei. Der Gedanke, die Kleinsche Hefe mit der Plimmerschen oder denen von Sanfelice in Beziehung setzen zu müssen, ist mir um so weniger gekommen, als Klein schon in seiner ersten Publikation darauf hingewiesen hat, daß seine neuentdeckte Hefe gerade von den genannten Autoren in jeder Hinsicht verschieden sei. Klein hat dies, außer im Texte seiner Arbeit, auch noch in einer der „conclusions“ ausdrücklich hervorgehoben, indem er sagt: „... eine pathogene Hefe, die sich durch kulturelle und physiologische Merkmale augenscheinlich von den von Sanfelice, Plimmer und anderen aus menschlichem Krebs gewonnenen Hefen (pathogenen Blastomyceten) unterscheidet“¹⁾. Diese Aeußerung Kleins hier mit seinen eigenen Worten festzustellen, ist mir auch deshalb von Wert, weil der betreffende Punkt in Baumgartens Jahresbericht (Bd. XVII. 1901. p. 913) — wohl durch versehentliche Weglassung des Wortes „nicht“ — falsch und irreführend referiert ist.

Da ich mich in meinen bisherigen Auseinandersetzungen auf den Standpunkt gestellt habe, daß der medizinische Forscher die pathogenen Hefen hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich, um ihrer Wirkung auf den Tierkörper willen studiere, so erwächst mir daraus die Pflicht — und um so mehr, als Jensen, wenn ich seine Ausführungen richtig beurteile, diesen Standpunkt teilt — die tierpathogene Wirkung der hier zum Vergleiche einander gegenübergestellten Hefearten näher zu beleuchten. Was zunächst die Kleinsche Hefe betrifft, so habe ich in meinen beiden Mitteilungen zur Genüge betont, und auch in der Einleitung dieser Arbeit wieder darauf hingewiesen, aus welchen Gründen ich dieser Art gegenüber allen vorher beschriebenen eine Sonderstellung zuerkennen zu dürfen glaubte. Wenn nun Jensen glaubte, daß ihr eine Sonderstellung nicht gebühre, so standen ihm hierfür zwei Wege offen. Einmal konnte er zu beweisen versuchen, daß die von mir (bezw. in Uebereinstimmung mit Klein) der betreffenden Hefe zugeschriebenen Eigenschaften nicht zu Recht beständen; zweitens konnte er den Beweis dafür antreten, daß besagte Eigenschaften nicht dieser Hefe allein, sondern auch noch anderen Arten zukämen. Jensen hat beide Wege eingeschlagen; wir wollen sehen, wie weit er darauf gelangt ist. Werfen wir darum zunächst einen Blick auf die Nachprüfung, der Jensen Kleins und meine Angaben unterzogen hat.

Zunächst hätte das eigentümliche Verhalten der Kleinschen Hefe gegenüber Mäusen, ihre außerordentliche Virulenz gegen diese Tierart, ihre in diesem Fall bewiesene Prädilektion für die Lungen, vielleicht zur Unterscheidung von anderen Hefearten, herangezogen werden können, wie z. B. *Saccharomyces neoformans* und *Saccharomyces lithogenes*, bei denen ihr Entdecker ausdrücklich angibt, daß sich bei Mäusen keine Veränderungen in den Lungen, bezw. Blastomyceten nur in geringer

1) Im Original „... a pathogenic torula apparently differing in cultural and physiological characteristics from the torula (pathogenic blastomycetes) obtained by Sanfelice, Plimmer and others from human cancer“.

Zahl vorhanden¹⁾. Indessen hat Jensen auf die Maus als Versuchstier überhaupt durchweg verzichtet. Was die Versuche an Meerschweinchen betrifft, so habe ich schon in meiner ersten Publikation darauf hingewiesen, daß bei dieser Tierart Unterschiede zwischen den Beobachtungen Kleins und den meinigen insofern hervortraten, als Klein niemals die — allerdings auch von mir nur in einigen Fällen konstatierten — Lähmungen der Hinterbeine gesehen hat, während ich hingegen niemals nach subkutaner Injektion die von Klein beschriebenen riesigen, gelatinösen, aus Leukocyten und Hefemassen bestehenden Tumoren erhalten habe. Ich habe mir das so erklärt, daß bei Meerschweinchen sich manche Rassen gerade den pathogenen Hefen gegenüber verschieden verhalten, denn es finden sich in der Litteratur an zwei Stellen noch größere Unterschiede angegeben. So berichtet Busse²⁾, daß Meerschweinchen für Impfung mit seiner Hefe nur in Ausnahmefällen empfänglich waren, während sie Sternberg³⁾ für dieselbe sehr empfänglich fand. Und ebenso konnte Anna Stecksén⁴⁾ Meerschweinchen mit der Hefe Curtis erfolgreich impfen, während Curtis⁵⁾ selbst diese Tiere in seiner Arbeit als refraktär bezeichnet hat. Bei den von Jensen mit der Kleinschen Hefe an Meerschweinchen angestellten Versuchen fanden sich Granulationsknötchen in verschiedenen Organen, aber weder die von Klein beschriebenen großen subkutanen Tumoren noch die von mir beobachtete Lähmung der Hinterbeine. Da ich dieselbe aber, wie gesagt, bei Meerschweinchen auch nur in einigen Fällen wahrgenommen habe und meine Angabe (die, wie gleich bemerkt sei, auch für Kaninchen galt), daß in den Fällen, wo ich keine Lähmung gesehen habe, doch immer eine starke Durchsetzung des Zentralnervensystems mit Hefen zu finden war, von Jensen nicht beachtet worden ist, so lassen sich aus seinen Versuchen an Meerschweinchen weder für noch wider meine Befunde Schlüsse ziehen.

Indessen ist übereinstimmend von Klein und von mir die Lähmung der Hinterextremitäten nach intravenöser Injektion bei Kaninchen beschrieben worden, und deshalb war unzweifelhaft das Kaninchen das geeignete Versuchstier für eine Nachprüfung. Jensen hat dieselbe an zwei Tieren vorgenommen. Das eine, dessen Protokoll er angibt, ist 5 Tage nach erfolgter Impfung gestorben, was bei einer Erkrankung, die mindestens 14 Tage dauern soll, als verfrüht anzusehen ist. Das zweite Tier, dessen Protokoll Jensen nicht anführt, hat zwar die erforderliche Zeit gelebt, ist indessen gestorben, ohne Lähmungserscheinungen gezeigt zu haben. Ueber die Untersuchung des Rückenmarks auf Hefezellen wird wiederum nichts erwähnt.

Ich kann demnach auf Grund vorstehender Versuche Jensens an Kaninchen nicht anerkennen, daß damit Kleins und meine Angaben widerlegt sind.

Dagegen kann ich in anderer Hinsicht in Jensens Versuchen bis zu einem gewissen Grade eine Bestätigung meiner Befunde erblicken. Und damit komme ich auf die von mir stets als besonders wichtig hin-

1) Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. (II. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI. p. 394 bezw. 414 und III. Bd. XXII. p. 171 bezw. 184/185.)

2) A. a. O. p. 52.

3) A. a. O. p. 53.

4) Autoreferat, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. p. 316.

5) A. a. O. p. 459.

gestellte Erscheinung der hämatogenen Schleimhaut-, vor allem der Konjunktivalentzündungen durch pathogene Hefe. Auf diesen Punkt ist Jensen in seinen textlichen Auseinandersetzungen nicht weiter eingegangen, so daß ich alles, was ich aus seinen Versuchen darüber berichte, seinen protokollarischen Angaben entnehme. Da ist es zunächst auffallend, daß bei dem zweiten Kaninchen, welches nach 14-tägiger Krankheit starb, eine „starke, beiderseitige Conjunctivitis“ verzeichnet ist; außerdem hatte das Tier — was nur nebenbei erwähnt sei — Knötchen in der Regenbogenhaut, welche auch in meinen Befunden eine Rolle spielten, und solche in der äußeren Haut, wodurch meine entsprechende, in zwei Fällen gemachte Beobachtung um einen dritten vermehrt wird.

Auch in dem Protokoll, welches Jensen von einem nach intraperitonealer Impfung mit Kleinscher Hefe verstorbenen Meerschweinchen anführt, heißt es auf p. 73: „Schleimhäute der Augenlider stark geschwollen, graugelb“. Und daß die Veränderungen am Auge eines anderen, auf dieselbe Weise behandelten Tieres noch weit stärker waren, wird an derselben Stelle erwähnt.

So gern ich nun diese Befunde Jensens mit als Beweise für die von mir behauptete spezifische Wirkung der Kleinschen Hefe auf die Schleimhäute, insbesondere die Augenbindehaut, genannter Tiere in Anspruch nehmen möchte, so werde ich daran durch die Tatsache verhindert, daß ich in Jensens Protokollen auch bei einer Reihe von Tieren, die mit anderen Hefearten geimpft waren, Veränderungen der Augenbindehaut verzeichnet finde. Zwar braucht Jensen das Wort Conjunctivitis nur bei dem erwähnten, mit Kleinscher Hefe infizierten Kaninchen, und die nach Impfung mit anderen Hefearten — nämlich mit „Kultur Sanfelice“ (von Král), *S. neoformans*, Hefe aus Adenocarcinom und Hefe Plimmer — von ihm beobachteten Augenbindehauterkrankungen beziehen sich lediglich auf Schwellung der Conjunctiva palpebralis, wobei nur in einem Falle — bei Hefe Plimmer — stärkere Sekretbildung erwähnt wird; trotzdem scheinen diese Befunde — zumal bei dem mit Kultur Sanfelice geimpften Meerschweinchen die Hefe auf den Augenschleimhäuten auch mikroskopisch nachgewiesen wurde — danach angetan, meine Behauptung, daß die Fähigkeit, hämatogene Konjunktivitiden zu erzeugen, eine nur der Kleinschen Hefe zukommende Eigentümlichkeit sei, zu widerlegen. Angesichts dieser Befunde Jensens muß ich zunächst meiner Verwunderung darüber Ausdruck geben, daß Beobachter, wie Sanfelice und Sternberg, der mit dreien von Sanfelices Hefen gearbeitet hat, diese Augenbindehauterkrankungen niemals erwähnen, was um so auffälliger ist, als beide genannten Forscher gelegentlich Angaben über andere durch Hefe bedingte Veränderungen am Auge machen, und daraus hervorgeht, daß sie auch dieses Organ ihrer Versuchstiere zum Gegenstande einer genauen Untersuchung gemacht haben. Sodann möchte ich daran erinnern, daß in meinen Versuchen die Kleinsche Hefe auch bei direkter Einbringung in den Konjunktivalsack von Meerschweinchen entzündungserregend wirkte, und ich daher die hämatogene Entstehung der Conjunctivitis nach Impfung bei dieser Tierart zwar aus Gründen, die in meiner Arbeit ausgeführt sind, für wahrscheinlich halten, aber nicht mit absoluter Sicherheit beweisen konnte. Dagegen diente mir das Verhalten des Kaninchens hierfür als schlagender Beweis, da bei

diesem Tiere die Hefe nur von der Blutbahn aus und nie bei direkter Infektion ihre Wirkung auf die Conjunctiva ausübte.

Und da in den — auch seinerzeit von mir zitierten¹⁾ — Versuchen von Stoeber²⁾, der mit Bussescher und Curtisscher Hefe arbeitete, insofern ähnliche Verhältnisse vorlagen, als die Kaninchen auf die Einbringung von Hefe in den Konjunktivalsack nicht reagierten, während sie sich für die Infektion, wenn sie direkt in das Innere des Auges erfolgte, empfänglich zeigten, so darf man wohl im allgemeinen annehmen, daß das Kaninchenauge Hefeinfektionen von außen weit weniger ausgesetzt ist, als dies beim Meerschweinchenauge in meinen Versuchen der Fall war, und umgekehrt, daß, wenn nach Impfung mit Hefe Augenbindehautentzündung eintritt, sie beim Kaninchen mit ungleich größerer Wahrscheinlichkeit als hämatogen entstanden anzusehen ist, wie beim Meerschweinchen. Nun ist es auffallend, daß in Jensens Versuchsprotokollen die Augenbindehauterkrankung immer bei Meerschweinchen, und nur in einem einzigen Falle beim Kaninchen uns entgegentritt, nämlich in dem Falle, wo die — unzweifelhaft von der Blutbahn aus wirkende — Kleinsche Hefe zur Verwendung gelangt war.

Mithin geht aus Jensens Versuchen nicht mit absoluter Sicherheit hervor, daß die Fähigkeit, hämatogene Schleimhaut-, insbesondere Konjunktivalentzündungen zu erzeugen, auch anderen Hefearten als der Kleinschen zukommt.

Indessen sehen wir in Jensens Versuchen die Kleinsche Hefe ihrer Spezifität noch weiter entkleidet, indem sie die ihr von Klein und mir zuerkannte — von Jensen übrigens, wie früher ausgeführt, nicht bestätigte — Eigenschaft, bei Versuchstieren Lähmungen der Hinterextremitäten zu erzeugen, mit anderen Hefearten teilen muß. Dieselbe Erscheinung hat Jensen nämlich mit „Kultur Sanfelice“ bei einem intravenös geimpften Kaninchen und mit Hefe Busse bei 3 intraperitoneal geimpften Meerschweinchen hervorgerufen. Wiederum muß ich meiner Verwunderung Ausdruck geben, daß weder Busse, noch Sanfelice, noch Sternberg, der unter anderem mit der Hefe Busse und der von Král bezogenen Hefe Sanfelice experimentiert hat, über solche Dinge zu berichten wissen. Immerhin ist es ja gar nicht ausgeschlossen, daß eine pathogene Wirkung, die bei einer bestimmten Hefeart regelmäßig eintritt und für dieselbe charakteristisch ist, sich zufällig auch einmal bei anderen Arten zeigt, obwohl das übereinstimmende Verhalten bei drei mit derselben Hefe geimpften Meerschweinchen schon als eine ungewöhnliche Häufung von Zufällen anzusehen ist. Jensen bemerkt zu diesem Verhalten der Busseschen Hefe folgendes:

„Eigentümlich ist es, daß die Hefezellen aus der Bauchhöhle verschwunden sind und im allgemeinen weder hier noch in den inneren Organen bei den toten Tieren durch Aussaat oder mikroskopisch nachgewiesen werden können, sondern nur im Zentralnervensystem günstige Bedingungen für ihr Gedeihen finden“³⁾.

Ich finde es um so eigentümlicher, als dies genau dem von mir (auf p. 746 meiner ersten Arbeit) geschilderten Verhalten der Klein-

1) A. a. O., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. p. 745.

2) Arch. f. Ophthalm. Bd. XLVIII. p. 178.

3) Im Original auf p. 81: „Ejendommeligt er det, at gaercellerne er svundne fra bughulen og almindelighed ikke paavises her eller i de indre organer hos de dode dyr, hverken ved saaning eller mikroskopisk, men at de kun i centralnervesystemet finder gunstige betingelser fer deres trivsel“.

schen Hefe entspricht; und noch eigentümlicher finde ich es, daß Jensen dieses Verhalten mit als ein Charakteristikum für die Busse'sche Hefe in Anspruch nimmt (p. 90), wogegen er es als solches für die Kleinsche Hefe bloß deshalb nicht gelten läßt, weil er sich in seinen eigenen, an einem unzureichenden Material angestellten, Versuchen nicht selbst davon überzeugen konnte. Allerdings sucht Jensen auf p. 81 seiner Arbeit meine Ausführungen so darzustellen, als ob auch ich die Lähmungen bei Kaninchen nur „in einigen Fällen“ beobachtet habe. Nun, ich habe freilich nicht gesagt, daß ich sie in allen Fällen gesehen habe; habe dies auch nicht sagen können, denn jeder, der mit einem größeren Tiermaterial arbeitet, weiß, daß immer einzelne Exemplare sterben, ehe alle Krankheitssymptome ausgebildet sind, oder daß letztere durch irgendwelche Zufälligkeiten nicht zur Beobachtung kommen. Wenn ich mich aber auf p. 746 meiner ersten Publikation in folgender Weise geäußert habe: „Die Paraplegie der Hinterbeine, welche Klein bei seinen beiden Kaninchen konstatiert hat, fanden wir nicht bloß bei dieser Tiergattung, sondern auch einige Male bei Meerschweinchen wieder, und auch dann, wenn eine solche Erscheinung fehlte oder der Wahrnehmung entgangen war, ergab die Sektion regelmäßig eine starke Durchsetzung des Zentralnervensystems mit Hefezellen, welche in den Organen der anderen Leibeshöhlen gar nicht oder weit spärlicher vorhanden waren“ — so bezieht sich doch das „einige Male“ nur auf Meerschweinchen, und habe ich damit die Lokalisation der Hefe im Zentralnervensystem deutlich genug als regelmäßiges Vorkommen hingestellt. Daß ich das gleiche Verhalten der Hefe — und auch die dadurch bedingten Krankheitserscheinungen — außerdem noch an zwei Hunden beobachtet habe, verschweigt Jensen.

Mithin besteht das Gleichgewicht, in welches Jensen seine produktiven und seine reproduktiven Leistungen zu setzen gewußt hat, nur für denjenigen Leser, der seine Literaturkenntnis über den vorliegenden Gegenstand allein aus der Jensenschen Arbeit schöpft, während ich im Gegensatz zu derselben nach wie vor meine Ansicht aufrecht erhalte, daß die Kleinsche Hefe die einzige Art ist, welcher die Eigenschaft zukommt, sich bei verschiedenen Tierspecies mit Vorliebe im Zentralnervensystem anzusiedeln und dadurch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle charakteristische Erscheinungen auszulösen.

Es bleibt mir nun noch übrig, mich darüber zu äußern, wie ich mir die von allen früheren abweichenden Versuchsergebnisse Jensens erkläre. Die Richtigkeit der von ihm protokollierten Befunde in Zweifel zu ziehen, habe ich weder die Absicht noch das Recht. Ich wende mich daher nur gegen die darauf aufgebauten Behauptungen, für deren Hin-fälligkeit mir die folgende Erwägung ein ausreichender Beweis scheint. Die Entdeckung der Hefen von Busse, Plimmer und Sanfelice liegt um Jahre zurück, während welcher Zeit die betreffenden Kulturen allen möglichen Einflüssen und Zufällen ausgesetzt gewesen sind. Damit will ich natürlich Niemandem den Vorwurf machen, daß eine mangelhafte Technik zur Veränderung der Kulturen beigetragen hätte, sondern auf die wiederholt von kompetenter Seite gemachte Beobachtung hinweisen, daß Hefearten im Laufe der Zeit ebensogut wie Bakterienkulturen ihre Eigenschaften von selbst verändern können. So schreibt Weis, den ich als sehr genauen Untersucher bereits im Anfange dieses Aufsatzes zu zitieren Veranlassung hatte, unter Berufung auf die

Autorität Hansens, über die von ihm untersuchten Arten (Hefe Klein, Hefe Plimmer, Sanfelices Hefe aus Adenocarcinom und *S. neoformans*): „Ich fand beim Arbeiten mit diesen Organismen, daß sie auch die Unbeständigkeit und Variabilität zeigten, von der Hansen und andere Beobachter sprechen“¹⁾. Und Hansen²⁾ sagt in einer seiner Schriften, daß noch weit größer, als die den Pflanzenphysiologen interessierenden Spontanveränderungen der Hefen, diejenigen sind, welche sich dem praktischen Brauer als Störungen seines Betriebes bemerkbar machen, ohne daß man über ihre Ursachen auch nur eine Ahnung habe. Angesichts dieser Tatsachen scheint mir die Möglichkeit um so näherliegend, daß auch die pathogenen Eigenschaften von Sproßpilzen, zumal bei fortgesetzter künstlicher Kultur, spontane Veränderungen erleiden können. Und wenn ich nun in Versuchen, wie den Jensenschen, die Hefearten in der Weise verändert finde, daß immer eine die kulturellen und pathogenen Eigenschaften der anderen angenommen hat, so bin ich der Ansicht, daß die „Variation“ hier schon viel zu große Fortschritte gemacht hat, um Versuchsergebnisse, die von denen der ersten Beobachter abweichen, noch als beweiskräftig gelten zu lassen. Denn wie ich meine eigenen Beobachtungen nicht durch die Versuche Jensens annulliert wissen möchte, so kann ich es mir auch nicht denken, daß alle die von Jensen umgestoßenen Angaben anderer Beobachter auf Irrtümern beruht haben sollen, und insbesondere nicht, daß es Sanfelice — so wenig ich diesem Forscher sonst in seinen Ansichten gerade auf dem Gebiete der pathogenen Hefen zu folgen vermag — entgangen sein sollte, wenn die verschiedenen von ihm beschriebenen Hefearten tatsächlich miteinander identisch wären. Vielmehr kann ich aus der Jensenschen Arbeit nur entnehmen, in wie hohem Maße der nivellierende Einfluß der Zeit auch auf die pathogenen Hefen seine Wirkung geübt hat.

Nachdruck verboten.

Neue Helminthen aus Westafrika.

Von Dr. v. Linstow in Göttingen.

Mit 1 Tafel.

Die ersten drei hier beschriebenen Helminthen verdanke ich der Güte des Herrn J. Jeffrey Bell aus den Beständen des British Museum in London, und danke ich an dieser Stelle nochmals bestens für die Uebersendung; das Wohntier der drei erstgenannten Arten ist *Erinaceus albiventris*; sie wurden gesammelt von Captain Lelean in Nigeria in Westafrika; das Organ, in dem sie gefunden wurden, ist nicht angegeben, ohne Zweifel ist es der Darm.

1) A. a. O., p. 292.

2) Hansen, Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. II. p. 67. München u. Leipzig (Oldenbourg) 1892.

Physaloptera dispar n. sp.

Fig. 1—2.

Das Kopfende zeigt die für das Genus *Physaloptera* charakteristische Cutikulareinziehung, aus welcher zwei rundliche Lippen hervorragen, die am Scheitelpunkt einen rechtwinkelig abgeschnittenen Zahn und dicht daneben jederseits 2 kleine Papillen tragen; weiter nach hinten bemerkt man jederseits eine größere; das Schwanzende ist bei beiden Geschlechtern abgerundet, beim Weibchen ist es kürzer und nähert sich mehr der Kugelform; der Oesophagus nimmt beim Männchen $\frac{1}{4,9}$, beim Weibchen $\frac{1}{6,2}$ der Gesamtlänge ein.

Das Männchen erreicht eine Länge von 16,6 und eine Breite von 0,53 mm, das Schwanzende mißt $\frac{1}{1,9}$ der ganzen Länge; letzteres trägt die beim Genus *Physaloptera* stets vorkommenden 4 langgestielten, rechts und links von der Kloakenmündung vorhandenen Papillen; sitzende Papillen finden sich 5 die genannte Mündung umgebende, 1 vor und 4 hinter derselben, und außerdem am Schwanzende jederseits 4, 1 vorn, 2 dicht nebeneinander in der Mitte und 1 hinten; die beiden Cirren sind sehr ungleich; der rechte, breitere, ist 0,35 und der linke, schmalere, 0,62 mm lang.

Das Weibchen ist 25 mm lang und 0,95 mm breit, das Schwanzende ist $\frac{1}{2,6}$ der Tierlänge groß; die Vulva mündet in der vorderen Körperhälfte und teilt die Länge im Verhältnis des vorderen Abschnitts zum hinteren wie 3 : 8; die dickschaligen Eier enthalten den entwickelten Embryo und sind 0,057 mm lang und 0,039 mm breit.

Echinorhynchus cestodiformis n. sp.

Fig. 3—4.

Man kennt eine Anzahl von Echinorhynchen, welche regelmäßige, rosenkranzartige Anschwellungen zeigen, wie *Echinorhynchus taenioides* Dies. aus *Dicholophus*, *E. spira* Dies. aus *Sarcorhamphus* und *E. echinodiscus* Dies. aus *Myrmecophaga*, und wieder andere, deren Körper tänenartig ist, wie *Echinorhynchus taeniaeformis* v. Linst. aus *Caranz* und *E. taeniatus* v. Linst. aus *Numida*; hier sieht man Pseudosegmente, die, wie die Proglottiden der Cestoden, von vorn nach hinten breiter werden und hinten rechtwinkelig zur Längslinie abgeschnitten sind, so daß der Körper ganz an einen Cestoden erinnert. Zu den letzteren gehört die hier beschriebene Art.

Die Länge beträgt bis 115 mm und die Breite vorn an den Pseudosegmenten 1,58 mm, hinten 2,17 mm; man zählt etwa 90 solcher Pseudosegmente, die an den vorderen zwei Körperdritteln stehen, am hinteren werden sie undeutlich.

Das Rostellum mündet in eine schüsselförmige, 0,59 mm tiefe Cutikulareinziehung und ist beim unverletzten Tier auch im vorgestreckten Zustande nicht sichtbar; die Länge des Rostellums beträgt 0,47 mm und die Breite 0,20; es trägt 14 Hakenkreise von je 8 Haken, die vorn 0,032 mm lang sind und nach hinten immer kleiner werden; die Wurzel trägt zwei rundliche Ausbuchtungen. Die 1,07 mm lange Rüsselscheide ist hinten kolbenförmig verdickt und hier 0,46 mm breit; sie ist außen mit 2 sich kreuzenden Lagen von Spiralmuskeln umgeben; die Lumnissen sind 1,70 mm lang; die ovoiden Eier haben eine 3-fache Hülle, von denen die äußere sehr dick ist, die Länge beträgt 0,085,

die Breite 0,049 mm und der Embryo trägt vorn einen Kranz von Häkchen.

Taenia voluta n. sp.

Fig. 5—6.

Größte Länge 17 mm; man zählt 60—70 Proglottiden, die schon am Skolex beginnen; die vordersten sind sehr kurz, ihre Länge beträgt 0,053 und die Breite 0,396 mm; die letzten sind hinten breiter als vorn; ihre Länge beträgt 1,14 und die Breite 1,34 mm. Der Scolex ist 0,38 mm lang und 0,40 mm breit; er ist vorn vorgezogen und abgerundet, Rostellum und Haken fehlen; die Saugnäpfe sind groß und haben vorn ein winkelig verengtes Lumen. Unter der Cuticula liegt eine Schicht Ring- und Längsmuskeln; im Parenchym verläuft eine kräftige Längsmuskulatur, welche auf Querschnitten einen Ring bildet, der die Rinden- von der Markschiicht trennt, deren Breite sich, von der Dorsal- nach der Ventralseite gemessen, verhält wie 2 : 3 : 2; überall im Parenchym verlaufen außerdem Dorsoventral-, Längs- und Transversalmuskeln.

Jederseits verläuft ein Längsgefäß in der Markschiicht, eins mehr der Dorsal-, das andere der Ventralseite genähert, vom Rande $1\frac{1}{100}$ des Querdurchmessers entfernt; der Durchmesser beträgt 0,031 mm; vorn und hinten in der Proglottide sind sie aber stark erweitert, bis auf 0,20 mm im Durchmesser, und vorn erfüllen sie fast den ganzen Dorsoventraldurchmesser des Gliedes; am Hinterrande desselben sind sie durch eine 0,065 mm breite Queranastomose verbunden, welche sehr stark dorsoventral und longitudinal geschlängelt ist. Der Hauptlängsnerv verläuft in der Mitte zwischen Gefäß und Gliedrand. Kalkkörperchen fehlen ganz.

Die Geschlechtsöffnungen stehen unregelmäßig abwechselnd am vorderen Viertel des Gliedrandes, nicht genau randständig, sondern ventral dem Gliedrande sehr nahe, wie man es auch bei anderen Tänien aus insektenfressenden Säugetieren, wie *Taenia acuta* Rud. der Fledermäuse, findet; das Genitalatrium ist mit einem breiten, muskulösen Ringwalle umgeben.

Der Cirrusbeutel ist birnförmig und nimmt $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$ des Querdurchmessers des Gliedes ein; er ist starkwandig und enthält Schlingen des Vas deferens; die prominenten Cirren sind kegelförmig und 0,11 mm lang, an der Basis 0,053 mm breit; das Vas deferens reicht vom Cirrusbeutel bis zur Mittellinie des Gliedes und ist in vielen Schlingen aufgerollt. Die Hoden sind zahlreich, auf Querschnitten zählt man etwa 25; ihre Größe beträgt durchschnittlich 0,046 mm.

Die Vagina ist breit und im Inneren mit starken, dichtgedrängten, nach außen gerichteten Borsten ausgekleidet; sie verläuft bis hinter die Schalendrüse, biegt dicht an derselben nach vorn um und erweitert sich an der dem Genitalatrium abgewandten Seite zu einem Receptaculum seminis; sie mündet hinter dem Cirrusbeutel. Die Schalendrüse liegt in der Mittelachse etwas hinter der Mitte und ist kugelförmig; hinter ihr findet sich der länglich-runde Dotterstock, dessen Zellen 0,0052 mm messen; der Keimstock liegt links und rechts von der Schalendrüse und besteht aus kolbigen Drüsenhaufen, deren Zellen mit großem Kern 0,013 mm messen. Eier waren noch nicht entwickelt.

Deutschen Ursprungs ist

Taenia (Hymenolepis) voluta n. sp.

Fig. 7—10.

aus *Anas boschas fera*, Coecum = *Taenia? microsoma* Crepl., Pagenstecher, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. IX. 1858. p. 525—528. Tab. XXI.

Diese Art ist entweder höchst selten oder sie ist bisher übersehen wegen ihrer Kleinheit und ihres verborgenen Aufenthaltes, denn sie ist bisher erst ein einziges Mal, und zwar im Jahre 1858, von Pagenstecher beschrieben, der sie mit einem Fragezeichen zur *Taenia microsoma* Crepl. stellt, mit der sie aber, wie auch Cohn (1901) ausspricht, nichts zu tun hat.

Die hier beschriebenen Exemplare stammen aus einer bei Göttingen geschossenen wilden Ente, und zwar nicht, wie man bei einer Tānie annehmen sollte, aus dem Darne, sondern aus dem hinteren Drittel des mit engem Lumen und dicker Wandung versehenen Coecum, in dem man in der Regel keine Tānien vermutet.

Die Länge beträgt bis 2,7 mm, die Breite hinter dem Skolex 0,087 mm, am Ende 0,26 mm; hinten werden die Proglottiden länger als breit, die letzte hat eine Länge von 0,31 mm; die Kette besteht aus einer Zahl von 18—20, meistens 19 Proglottiden, von denen in der Regel die letzten 5 Geschlechtsorgane entwickelt haben.

Der Scolex ist eiförmig und 0,26 mm breit, das 0,088 mm lange und 0,0061 mm breite Rostellum ist von der Spitze her einstülplbar, so daß man es öfter verkürzt sieht und die Haken mitten im Scolex, unmittelbar vor dem Vorderrande der Saugnäpfe. Das Rostellum trägt an der Spitze 10 Haken, welche 0,0338 mm lang sind und einen langen, schlanken Wurzelast haben.

Die Zeichnung, welche Pagenstecher von den Haken gibt, ist ganz verfehlt; das Gesamtbild, welches er von der Tānie gibt, zeigt aber zweifellos, daß er die hier beschriebene Art vor sich gehabt hat.

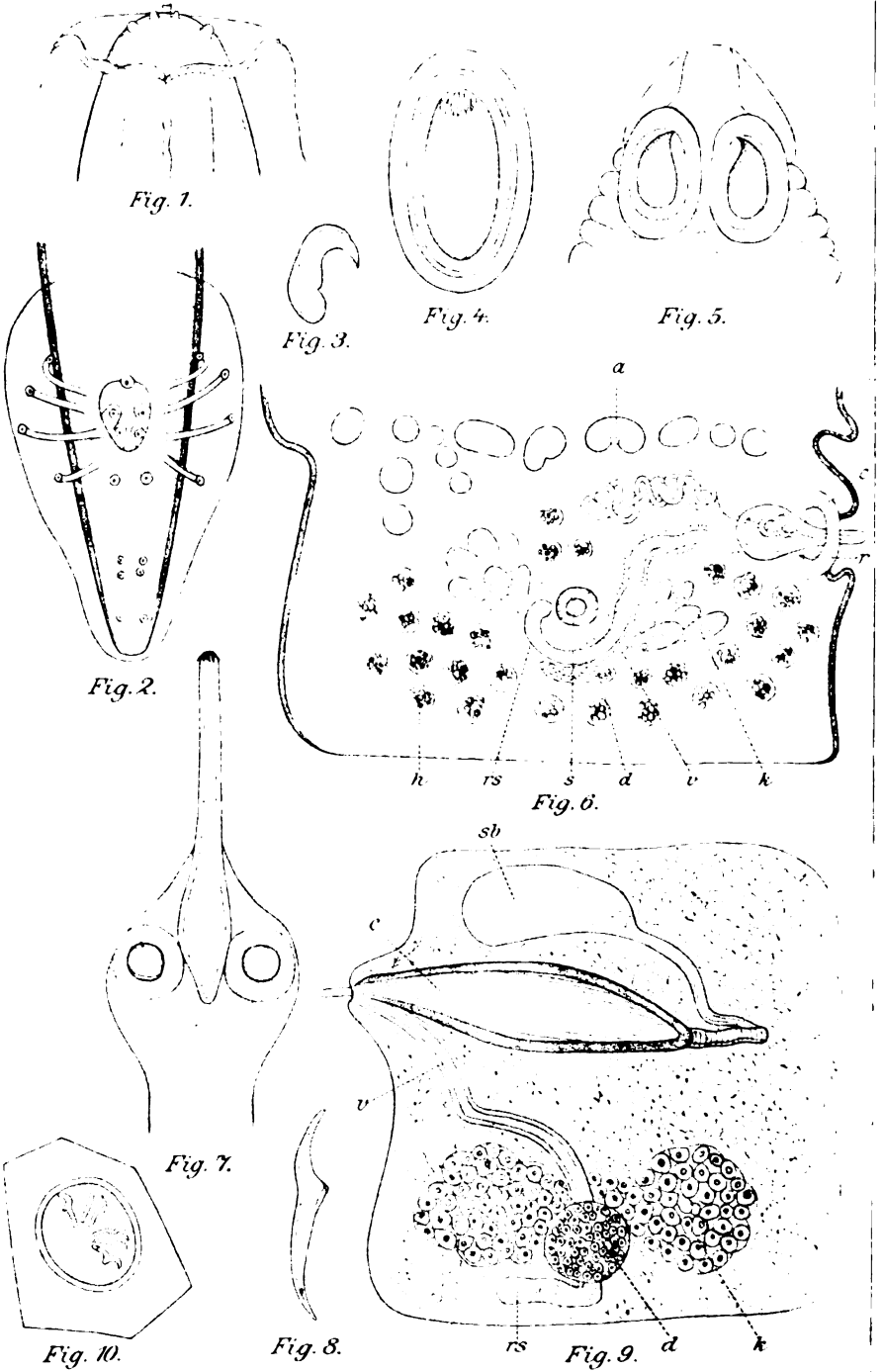
Zwei Gefäße verlaufen in den vorderen 14 Proglottiden, wenn wir 19 als Regel annehmen, sehr stark geschlängelt, in den 5 hinteren sind sie nicht mehr erkennbar; Kalkkörperchen fehlen ganz.

Von den letzten Gliedern mit Geschlechtsorganen gleicht keins dem anderen, da die letzteren immer in einem anderen Entwicklungszustande gefunden werden als im vorhergehenden.

Die Geschlechtsöffnungen stehen randständig und einseitig im vorderen Viertel des Gliedrandes.

Im 15. und 16. Gliede, immer eine aus 19 Gliedern bestehende Kette vorausgesetzt, sieht man 3 Hoden dicht gedrängt in einer Querlinie in der Mitte der Proglottide liegen, der mittlere etwas weiter zurückgelagert als der rechte und linke; sie sind kugelförmig und messen etwa den 5. Teil des Querdurchmessers des Gliedes. Der Cirrusbeutel ist auffallend groß und ist im 16.—18. Gliede erkennbar; er ist spindelförmig und nimmt mehr als $\frac{2}{3}$ des Querdurchmessers der Proglottiden ein; die Wandung ist dick und mit starken Längsmuskeln belegt. Der Cirrus ist 0,023 mm lang und 0,0052 mm breit und mit äußerst feinen Dornen besetzt. Vor dem Cirrusbeutel liegt eine große Samenblase, welche fast bis zum vorderen Gliedrande reicht, und der Verbindungsgang zwischen ihr und dem Cirrusbeutel trägt in dessen Nähe Ringmuskeln.

Die Vagina wird im 16. Gliede sichtbar; sie mündet dicht hinter dem Cirrusbeutel und verläuft geschlängelt nach der Mitte des Glied-



hinterrandes, wo sie sich zu einem Receptaculum seminis erweitert. Der Keimstock erscheint im 17. Gliede; er liegt im hinteren Drittel desselben und besteht aus zwei rundlichen, durch eine Brücke verbundenen Hälften; Pagenstecher nennt ihn kleeblattförmig, was nicht richtig ist, da er den Dotterstock mit dazu rechnet. Letzterer ist kugelförmig und etwa $\frac{1}{5}$ des Querdurchmessers eines Gliedes groß; er liegt hinten in demselben, etwa in der Mitte, an der halsartigen Verdünnung des Keimstocks.

Der Uterus erscheint in den beiden letzten, dem 18. und 19. Gliede; er entsteht da, wo der Keimstock lag und liegt hufeisenförmig gekrümmt hinten im Gliede, die beiden Schenkel rechts und links nach vorn, die Krümmung nach hinten gerichtet; die im Uterus vorhandenen Eier sind stets unreif; sie färben sich lebhaft mit Boraxkarmin, die stark lichtbrechenden Hüllen fehlen noch, ebenso die Haken der Oncosphäre. Tänien mit wenig Gliedern und einer derartigen Entwicklung der Geschlechtsorgane, daß kein Glied hierin dem vorhergehenden gleicht, kennen wir eine ganze Reihe, wie *Taenia echinococcus* v. Sieb., *T. embryo* Krabbe, *T. unilateralis* Rud., *T. paradoxa* Rud., *Taenia (Echinocotyle)* Rosseteri-Blanchard, *Taenia (Leptotaenia) ischnorhyncha* Lühe, *Taenia (Dicrotaenia) cuneata* v. Linstow und die zu *Davainea* gerechneten Arten *proglottina* Davaine, *minuta* Krabbe u. a. In einem Punkte ist aber unsere Art in merkwürdiger Weise von diesen unterschieden; im letzten Gliede abortiert der Uterus mit unreifen Eiern; das in der Proglottide hufeisenförmig gebogene Organ streckt sich nach dem Freierwerden und wird 1,12 mm lang und 0,12 mm breit; in diesen hinten und vorn abgerundeten, krötenlauchartigen Schläuchen liegen die Eier in 2—3 Reihen; bald verschwindet die umgebende Substanz und es bleiben nur Eischnüre übrig, in welchen die Eier reifen; sie erscheinen neben den Tänien in einer der der letzteren entsprechenden Zahl und die in ihnen liegenden Eier sind von einer polygonal aneinander abgeplatteten Plasmamasse umgeben, die etwa 0,047—0,052 mm groß ist; die mit 6 Haken bewaffnete Oncosphäre ist von einer dünnen Hülle umgeben und ist 0,047 mm lang und 0,040 mm breit.

Tafelerklärung.

Fig. 1—2. *Physaloptera dispar*. 1. Kopfende, 2. männliches Schwanzende von der Bauchseite.

Fig. 3—4. *Echinorhynchus cestodiformis*. 3. Rostellumhaken, 4. ein Ei.

Fig. 5—6. *Taenia voluta*. 5. Scolex, 6. Flächenschnitt eines Gliedes. *a* Teile der stark gewundenen Queranastomose der Gefäße, *c* Cirrusbeutel, *r* äußere Hälfte des das Genitalatrium umgebenden muskulösen Ringes, *h* Hoden, *v* Vagina, *rs* Receptaculum seminis, *k* Keimstock, *d* Dotterstock, *s* Schalendrüse.

Fig. 7—10. *Taenia abortiva*. 7. Scolex, 8. Haken, 9. Flächenschnitt eines Gliedes, Bezeichnung wie bei Fig. 6, *sb* Samenblase, 10. ein Ei.

Nachdruck verboten.

Dibothriocephalus latus im Hunde.

Von Prof. Dr. Stefan von Rätz in Budapest.

Aus der Reihe der im Menschen lebenden Würmer sind mehrere bekannt, die auch in den karnivoren Haustieren vorkommen. Die Erklärung dafür ist wahrscheinlich in dem Umstande zu suchen, daß diese Tiere mit dem Menschen vereint leben, daher der Infektionsgefahr, d. i. der Eventualität, die unentwickelten Formen aufzunehmen, ebenso ausgesetzt sind, wie der Mensch selbst.

Ein solch gemeinsamer Parasit des Menschen und Hundes ist von den Bandwürmern *Dipylidium caninum* (früher *Taenia cucumerina*), welchen man bisher in ungefähr 24 Fällen im Menschen vorgefunden hat. Den Cysticercoiden des Bandwurms haben Melnikow und Leuckart in der Hundelau (Trichodectes canis), Grassi und Rovelli im Hundefloh (*Pulex serruticeps*), Sonsino aber im menschlichen Hausfloh (*Pulex irritans*) gefunden. Die Infektion mag somit in der Weise erfolgen, daß der Hund diese in seinem Pelze sich bewegenden und zum Teil blutsaugenden Ektoparasiten beim Belecken der Haut bezw. des Pelzes zerbeißt und verschluckt, infolgedessen aus den im Verdauungskanaale freiwerdenden Onkosphären sich die Bandwürmer entwickeln.

Allem Anscheine nach erfolgt in gleicher Weise auch die Infektion des Menschen, besonders der Kinder, denen die Onkosphären beim Streicheln, etwa auch Küssen von Hunden oder Katzen (in welchen der Parasit gleichfalls vorkommt) irgendwie in den Mund und von hier in den Darmkanal gelangen.

Ebenso sind auch Menschen und Hunde gemeinsame Wirte von *Taenia echinococcus*, nur mit dem Unterschiede, daß im Menschen bloß die unentwickelten Formen desselben, *Echinococcus polymorphus* und *multilocularis*, leben, im Hunde dagegen der entwickelte Bandwurm.

In gleicher Weise lebt auch *Dibothriocephalus latus* in diesen beiden Wirten. Aus dem Hunde hatten ihn Linné und Pallas zuerst erwähnt, seitdem aber wurde derselbe in vielen Fällen und an verschiedenen Orten beobachtet. So z. B. fanden ihn v. Siebold in Ostpreußen, Steenstrup in Holstein, Krabbe in Dänemark, Cobbold in England, Knoch in St. Petersburg und Hoemden in der Gegend des N'gemisees¹⁾.

In Frankreich hat ihn Megnin²⁾ zu Vincennes in einem Hunde aufgefunden, welcher die Stadt niemals verlassen hatte.

Aus Italien erwähnt ihn Perroncito³⁾. Sehr wahrscheinlich ist es ferner, daß der von Ercolani beschriebene *Bothriocephalus canis*, sowie die von Generali im Museum der tierärztlichen Lehranstalt zu

1) Ariola, V., Revisione della famiglia Bothriocephalidae s. str. (Arch. de Parasitologie. T. III. No. 3. p. 391.)

2) De la présence d'un Bothriocephalus latus chez un chien de six mois, né et élevé à Vincennes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1883. p. 308.)

3) I parassiti dell' uomo e degli animali utili. Secondo edizione. Milano 1901. p. 310.

Mailand vorgefundenen zwei *Bothriocephali* gleichfalls nichts anderes sind, als der breite Bandwurm¹⁾.

Auch in Deutschland wurde er in einigen Fällen beobachtet. Deffke²⁾ fand zu Berlin in einer 2—3-jährigen Dogge 7 Exemplare desselben, deren größtes 8 m, das kleinste aber 1,5 m maß. In München wurde das Vorkommen desselben gleichfalls öfters verzeichnet. Kitt³⁾ sah ihn auch in einem Hunde, der nie aus München gekommen war und dennoch 6 mehrere Meter lange, breite Bandwürmer im Verdauungskanale hatte.

In Oesterreich erwähnt ihn Bruckmüller aus einer Katze, dagegen habe ich über das Vorkommen im Hunde keinerlei verlässliche Daten gefunden.

Das Vorkommen des Parasiten in Ungarn ist bis in die neueste Zeit von niemand, weder aus dem Menschen noch aus Hunden oder Katzen, verzeichnet worden. Theodor Ortvay⁴⁾ erwähnt in seinem 1902 erschienenen Werke über die Tierwelt des Komitates Pozsony zuert, daß zu Pozsony der breite Bandwurm in zwei Fällen von Menschen abgetrieben worden sei. Ueber die Infektion wird bezüglich des ersten Falles keine Aufklärung geboten, betreffs des zweiten aber wird gesagt, daß die Infektion in Bosnien erfolgt sei. Also auch diese Aufzeichnung bietet wenig Aufschluß über das Vorkommen von *Dibothriocephalus latus* in Ungarn, weil über die Beobachtungen bloß nach dem Gedächtnis berichtet wird.

Die Infektion erfolgt, wie dies zuerst M. Braun⁵⁾ nachgewiesen hat, durch die in Fischen, und zwar in *Esox lucius*, *Lota vulgaris*, *Perca fluviatilis*, sowie in *Salmo umbla*, *Trutta vulgaris*, *Tr. lacustris*, *Thymallus vulgaris* etc. parasitisch lebenden Larven (Pleocercoiden).

Eine wesentliche Vorbedingung für das Vorkommen des *Dibothriocephalus* ist es somit, daß auf dem betreffenden Gebiete die Fische heimisch seien, in welchen der Wurm sein Larvenstadium verlebt. In den Flüssen und Seen Ungarns kommt ein Teil jener Fische vor und mithin ist die erwähnte Vorbedingung auch hier vorhanden.

Bei der Untersuchung der Fische des Balaton auf parasitische Würmer habe ich den Hecht und Barsch mit besonderer Aufmerksamkeit auf Pleocercoiden untersucht, aber deren keine gefunden⁶⁾.

Mehrmals ist zwar der Verdacht aufgetaucht, daß in den ungarischen Fischen *Dibothriocephalus*-Larven leben, allein derselbe hat sich in keinem Falle als begründet erwiesen. In zwei Fällen habe ich selbst Gutachten abgegeben, auf Grund deren das Ministerium des Inneren bezüglich des einen Falles auch Verfügungen getroffen hat⁷⁾. Im ersten Falle wurden meiner Anstalt Karauschen (*Carassius vulgaris*), im zweiten Weißfische (*Abramis brama*) eingesandt, in welchen ich eine große Anzahl Larven

1) Railliet, Le développement du *Bothriocephalus latus*. (Recueil de méd. vétér. 1888. p. 341.)

2) Die Entozoen des Hundes. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XVII. p. 1.)

3) Pathologische Anatomie der Haustiere. 2. Aufl. Bd. II. p. 107.

4) Pozsonymegye Állatvilága I. K. Állatrajzi rész. Pozsony 1903. p. 625.

5) Zur Entwicklungsgeschichte des breiten Bandwurms. Würzburg 1883.

6) A Balaton tud. tanulmányozásának eredményei. (Resultate der wissenschaftlichen Durchforschung des Balaton.) Bd. II. p. 141.)

7) Chyzer Kornél, Az egészségügyre vonatkozó törvényekés rendeletek gyűjteménye. (Sammlung der auf das Sanitätswesen bezüglichen Gesetze und Verordnungen.) 2. Aufl. 1900.

des Riemenwurms (*Ligula simplicissima*), vorfand, welche bei einzelnen Exemplaren das Gewicht des Wirtes fast überwogen.

Diese hatte man mit dem breiten Bandwurm verwechselt.

Andere haben sich mit dieser Frage nicht sonderlich befaßt und so ist denn meines Wissens die unentwickelte Form von *Dibothriocephalus latus* aus ungarischen Fischen noch unbekannt, dagegen habe ich den entwickelten Bandwurm zweimal in Hunden gefunden.

Am 5. Februar 1902 wurde der Kadaver eines 8-jährigen Pudels behufs Sektion in meine Anstalt gebracht, in dessen Darmkanal in Gesellschaft von *Ankylostomum trionocephalum* und *stenocephalum* mehrere größere und kleinere Proglottidenketten gefunden wurden, welche sich als Teile des breiten Bandwurms erwiesen haben. Den Kopf gelang es zwar nicht zu finden, allein das eigentümliche Aussehen der Glieder, die Form des mit Eiern gefüllten Uterus, sowie überhaupt die ganze anatomische Struktur bezeugte, daß es *Dibothriocephalus*-Glieder seien.

Dennoch maß ich diesem Falle keine besondere Wichtigkeit bei, weil es sich herausstellte, daß der Hund mit seinem vorigen Besitzer mehrere Male im Auslande und auch in Rußland gewesen ist. Es war somit die Möglichkeit vorhanden, daß das Tier die Pleocercoiden außerhalb der Grenzen Ungarns in sich aufgenommen hatte.

Am 15. Januar 1903 aber wurden im Darmkanale eines an der Wutkrankheit verendeten Hundes bei der Sektion abermals 3 Exemplare von *Dibothriocephalus* gefunden und von zweien derselben auch der Kopf erhalten. Der Wirt dieser Bandwürmer war eine 5-jährige Dogge, die in Budapest geboren wurde und seitdem beständig hier im Angyalöld lebte, wo sie mit Küchenabfällen aus einem Gasthofs gefüttert wurde.

Der größte dieser Bandwürmer ist ca. 1 m, der zweite 84 cm, der dritte aber 77 cm lang, die größten Glieder dagegen haben eine Breite von 6, 9 bzw. 10 mm.

Ihre Körperform ist ganz charakteristisch und stimmt mit dem aus Menschen stammenden *Dibothriocephalus* vollständig überein. Der Kopf ist mandelförmig, an beiden Seiten mit zwei länglichen Sauggruben, worauf der Hals und die lange Kette der Glieder folgt. Die vorderen Glieder sind im Verhältnis breit, aber kurz, die mehr nach hinten stehenden dagegen länger, im hinteren Körperdrittel viereckig. Die Farbe war im frischen Zustande gelblich-grau, nach dem Stehen im Wasser bekamen die Ränder einen etwas bräunlichen Ton, der mit Eiern gefüllte Uterus aber wurde ganz braun.

Wenn sie indessen dennoch von dem aus Menschen herkommenden *Dibothriocephalus* abweichen, so ist dies nur daran zu erkennen, daß sie kürzer sind. Die in Menschen lebenden Exemplare können 2—9 m lang sein und dementsprechend die größten Glieder bis 18 mm lang werden. Aus den Fütterungsversuchen von Braun ist es jedoch bekannt, daß der Wurm im Menschen binnen 5 Wochen 257,8—452,8 cm anwachsen und aus 1000—1326 Gliedern bestehen kann, d. i. es können sich täglich 31—32 Glieder entwickeln, was einer Kette von 8—9 cm entspricht. Die Länge hängt mithin teilweise von dem Alter des Wurmes ab.

Aus denselben Versuchen ist es indessen auch bekannt, daß der *Dibothriocephalus* in der Katze binnen 44 Tagen bloß die Länge von 4 cm erreichte. Ähnliche Erfahrungen machte Braun auch bezüglich des Hundes, inwiefern in diesem der Wurm zwar länger wurde als in der Katze, aber kleiner blieb, als er während derselben Zeit im Menschen geworden wäre.

Die Erklärung dieser Erscheinung beruht darauf, daß die parasitisch lebenden Würmer sich in ihrem Wachstum bis zu einem gewissen Grade der Körpergröße des Wirtstieres sozusagen dem Raume anpassen. So ist z. B. *Ascaris mystax* und *Dipylidium caninum* aus dem Hunde stets größer als aus der Katze.

Die Abweichung in der Größe ist somit keine wesentliche. Es spricht also alles dafür, daß wir es mit *Dibothriocephalus latus* zu tun haben und daß die Infektion in Budapest erfolgt ist.

Fraglich kann es nun nur sein, ob die Pleocercoiden mit dem Fleische irgend eines ungarischen Fisches in die Verdauungsorgane des Hundes geraten sind oder etwa durch Verzehrung von aus dem Auslande, aus Galizien eventuell aus Rumänien, importiertem frischen Fischfleische oder überhaupt aus dem Auslande stammenden, wenig konservierten (geräucherten oder getrockneten) Fischfleische?

In Galizien kommt *Dibothriocephalus* tatsächlich vor, ebenso auch in Rumänien; Babes hat ihn wiederholt in Menschen gefunden, die an hochgradiger Blutarmut (*Anaemia perniciosa*) gestorben waren, und hat auch die Pleocercoiden im Fleische des Hechtes nachgewiesen. Derselbe ist somit auch an der unteren Donau heimisch.

Nun gelangen Fische aus Galizien und Rumänien auch auf die ungarischen Märkte, es ist daher die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Infektion durch solche erfolgt ist. Auf Grund der in Rumänien gesammelten Erfahrungen ist es aber überhaupt nicht für unmöglich zu halten, daß die Larve des *Dibothriocephalus* auch in unseren Donaufischen vorkommen können.

Aus meinen beiden Fällen läßt sich die Frage nicht bestimmt beantworten. Immerhin aber sind es gewichtige Argumente dafür, daß man die Sache auch fernerhin mit Aufmerksamkeit verfolge und hauptsächlich in der Richtung forsche, ob die Larven in unseren Fischen zu finden sind, denn meiner Ansicht nach läßt es sich nur dann als erwiesen betrachten, daß der Bandwurm in Ungarn tatsächlich heimisch sei, wenn es gelingt, auch die unentwickelten Formen desselben aufzufinden; im entgegengesetzten Falle müßte stets angenommen werden, daß die Pleocercoiden aus irgend einem Fische importiert worden seien.

Es sind mehrere Beispiele bekannt, daß Parasiten, die von aus fremden Ländern eingewanderten Menschen eingeschleppt wurden, sich auf Gebieten sesshaft machten und heimisch wurden, wo dieselben früher völlig unbekannt waren.

So wurde *Filaria medinensis* durch Negersklaven aus Afrika nach Amerika verschleppt; *Distomum* oder *Paragonimus Westermanni* aber, laut Ward, durch Japaner in Nordamerika verbreitet. Und selbst bezüglich *Dibothriocephalus latus* liegt eine solche Beobachtung vor, inwiefern, laut Bollinger, in München in jüngster Zeit dieser Bandwurm in Menschen vorkommt, die außerhalb Münchens sich bloß am Starnbergersee aufhielten, und er erklärt dies mit der Annahme, daß der See durch die aus dem Auslande dahin gekommenen Reisenden mit dem *Dibothriocephalus* bevölkert worden sei.

Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß dieser Bandwurm in ähnlicher Weise auch nach Ungarn eingeschleppt worden sei, wenn er auch sonst in Ungarn nicht heimisch gewesen wäre.

Nachdruck verboten.

Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal.

[Institut bactériologique de l'Université de Liège (Dr. E. Malvoz).]

Par **Yvo Pirenne.**

(Schluß.)

IV.

Les substances hémolytique, vibrionicide et bactéricide sont-elles des alexines?

Des expériences faites au cours de ce travail, il apparait nettement que lorsque l'on parle de pouvoir microbicide des sérums normaux, on confond sous cette dénomination des propriétés radicalement différentes, reconnaissant des mécanismes tout à fait distincts.

Le sérum de rat présente un exemple remarquable de la dissociation de ces propriétés.

Bien des auteurs, Metchnikoff entr'autres, dans son traité de l'Immunité, parlent de l'alexine ou cytase bactéricide de ce sérum pour désigner sa propriété destructive vis-à-vis de la bactérie charbonneuse.

Cependant si cette façon de s'exprimer s'applique à l'exemple du vibron cholérique pour lequel il s'agit bien d'une alexine agissant avec la collaboration d'une sensibilisatrice, il semble bien qu'il faille cesser de parler d'alexine bactéricide pour le charbon: rien n'autorise à considérer comme alexine la ou les substances qui existent dans le sérum de rat à côté de l'alexine de Buchner et qui exercent une action microbicide sur la bactérie charbonneuse.

Afin d'apporter une preuve décisive à l'appui de notre opinion, nous avons institué une série d'expériences ayant pour but de rechercher si les substances hémolytique, vibrionicide et bactéricide peuvent être toutes considérées comme de nature alexique.

On sait que l'une des propriétés les plus typiques des alexines est celle de provoquer la formation d'antiauxines dans le sérum des animaux auxquels on a injecté ces alexines: c'est un fait qui a été mis en lumière notamment par Bordet.

Dans le but de déterminer d'une façon précise si les substances bactéricide, vibrionicide et hémolytique du sérum de rat possèdent les propriétés d'une alexine et sont capables de provoquer la formation d'une antiauxine, nous avons injecté au cobaye (nous avons choisi cet animal parce que son sérum normal n'est bactéricide ni pour le charbon ni pour le choléra) du sérum de rat frais par doses de 2 à 3 ccm et à une semaine d'intervalle, pendant six semaines consécutives.

Si l'on tient compte de la petite taille de l'animal injecté, il faut considérer cette dose comme une forte injection de sérum.

Après ces injections, le sérum de cobaye préparé a été soigneusement recueilli et chauffé à 56°: on sait en effet que les antiauxines ne sont pas détruites à cette température (Ehrlich, Bordet).

Pour la facilité de l'exposé nous avons désigné ce sérum de cobaye injecté de sérum de rat frais sous le nom de sérum de cobaye-anti. Nous avons d'abord recherché si le sérum de rat est encore

microbicide pour le charbon Malfitano et pour le vaccin I quand il est mélangé avec partie égale de sérum de cobaye anti.

Nous avons réuni au tableau IX quelques données relatives à ces essais. Nous avons dû évidemment faire un certain nombre d'essais témoins. Pour montrer notamment que la dilution du sérum de rat par le sérum anti n'entraînait pas de cause d'erreur nous avons fait des témoins avec du sérum de rat dilué avec partie égale d'eau physiologique.

En second lieu, pour le cas où le sérum de cobaye neuf eût exercé une action inhibitrice normale sur la substance bactéricide du sérum de rat, nous avons fait des témoins où nous mélangions à du sérum de rat partie égale de sérum de cobaye normal.

Un simple coup d'oeil jeté sur le tableau montre que le cobaye ayant reçu du sérum frais de rat ne fournit pas un sérum antibactéricide pour le charbon.

On ne peut interpréter ce résultat par l'action éventuelle de précipitines du sérum du cobaye préparé, précipitines qui engloberaient les bacilles en petits groupements, ce qui provoquerait une diminution du nombre des colonies sur les plaques Pétri.

Les mélanges 2 et 5 se sont comportés comme les témoins 1 et 4 où certainement il n'y a pas eu de précipitines en jeu.

De plus, le microscope ne montrait pas de précipité englobant les microbes.

On remarquera que l'action bactéricide est moindre, toutes choses égales d'ailleurs, vis-à-vis du charbon virulent que du vaccin I, ce qui est dû à ce qu'il s'agissait forcément de dilutions du sérum bactéri-

Tableau IX.

Absence d'action antibactéricide du sérum de cobaye injecté de sérum de rat.

Mélanges	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 4 heures	après 24 heures
Mélange 1, témoin. Sérum de rat non chauffé 4 gouttes, eau physiologique 4 gouttes, vaccin I charbon 2 anes	144	22	8
Mélange 2. Sérum de rat non chauffé 4 gouttes, sérum cobaye anti chauffé 4 gouttes, vaccin I charbon 2 anes	238	32	4
Mélange 3, témoin. Sérum de rat non chauffé 4 gouttes, sérum de cobaye normal chauffé 4 gouttes, vaccin I 2 anes	774	34	6
Mélange 4, témoin. Sérum de rat non chauffé 4 gouttes, eau physiologique 4 gouttes, charbon Malfitano 2 anes	2978	1372	516
Mélange 5. Sérum de rat non chauffé 4 gouttes, sérum cobaye anti chauffé 4 gouttes, charbon Malfitano 2 anes	3015	1403	468

Tableau X.

Action antihémolytique du sérum de cobaye injecté de sérum de rat.

Mélange 1, témoin. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, eau physiologique 8 gouttes	Après 5 heures de contact addition de 2 gouttes d'hématies de poule sen- sibilisées puis lavées à l'eau physiologique	Hémolyse complète et ra- pide en 30 minutes à 37°
Mélange 2. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, sérum cobaye anti chauffé 2 gouttes, eau physio- logique 2 gouttes	id.	pas d'hémolyse ni à l'oeil nu ni au microscope, même après 24 heures
Mélange 3, témoin. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, eau physiologique 10 gouttes	id.	hémolyse rapide
Mélange 4, témoin. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, sérum cobaye nor- mal chauffé 8 gouttes, eau physiologique 8 gouttes	id.	hémolyse rapide
Mélange 5. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, sérum cobaye anti chauffé 8 gouttes, eau physio- logique 8 gouttes	id.	pas d'hémolyse comme le No. 2
Mélange 6. Sérum de rat frais non chauffé 2 gouttes, eau physiologique 18 gouttes	id.	hémolyse rapide

NB. Dans ces expériences on a laissé les mélanges pendant 5 heures en contact après l'addition des hématies, mais dans d'autres essais nous nous sommes assurés que la neutralisation de l'alexine se fait déjà après quelques minutes.

cide; et ces dilutions sont moins actives, quoique encore bactéricides, vis-à-vis du charbon virulent que vis à vis du charbon atténué.

Les chiffres obtenus n'en restent pas moins tous comparables, ce qui est la chose essentielle.

Mais si le sérum de cobaye préparé au moyen de sérum de rat n'est pas antibactéricide, nous avons constaté qu'il renferme un anti-corps neutralisant l'alexine hémolytique du sérum de rat, laquelle est le facteur, ainsi que l'avons vu, de l'action microbicide vis à vis du vibron cholérique.

Ces données sont établies nettement par les essais que nous avons réunis dans le tableau X.

Il résulte de l'examen de ce tableau que le sérum de cobaye injecté de sérum de rat, acquiert la propriété de neutraliser l'alexine hémolytique de rat, même déjà à parties égales des deux sérums, propriété que ne présente pas le sérum normal de cobaye.

On n'a pas vu de précipités se former dans les mélanges, notamment autour des hématies, ce qui exclut l'action de précipitines empêchant l'hémolyse.

Que donne la recherche directe des anticorps du sérum de cobaye-anti vis-à-vis de la substance vibrionicide?

Nous avons constaté d'une part, par la méthode des plaques, que

le sérum de rat additionné de sérum de cobaye-anti perd la propriété de détruire les vibrions cholériques.

D'autre part, par l'examen microscopique, nous avons étudié l'action du sérum de cobaye-anti sur la production du phénomène de Pfeiffer au moyen de sérum de rat.

En sensibilisant des vibrions cholériques par le choléra-sérum chauffé et en y ajoutant de l'alexine fraîche de rat même diluée au $\frac{1}{3}$ nous avons observé en très peu de temps une magnifique production du phénomène de Pfeiffer: tous les vibrions sont transformés en éléments sphériques.

Mais si l'alexine de rat à été additionnée de deux parties de sérum chauffé de cobaye-anti, nous constatons que l'immense majorité des vibrions reste indemne.

Il y a bien agglutination, mais l'action de l'alexine a été paralysée et on n'observe que de très rares boules.

* * *

Quelles doivent être les conclusions des expériences décrites dans le chapitre IV?

Les substances hémolytique et vibrionicide donnent un anticorps, une antialexine.

Pour ce qui concerne la substance bactéricide pour le charbon, les faits montrent qu'elle ne donne pas d'anticorps contrairement aux alexine étudiées jusqu'à ce jour.

Il faut donc refuser à la substance bactéricide la qualité d'alexine. Si la substance toxique pour le charbon, qui existe dans le sérum de rat chauffé avait les propriétés d'une alexine, ce sérum de rat chauffé eût été capable, comme les alexines des sérums, de transformer en boules les vibrions de Koch spécifiquement sensibilisés. Or nous n'avons jamais pu réaliser le phénomène de Pfeiffer avec le sérum de rat chauffé.

Cependant ce phénomène constitue un réactif des alexines extrêmement précis et très délicat.

Nous avons pu constater qu'on peut révéler la présence de très faibles traces d'alexine dans un liquide, au moyen de la culture de vibrions de Koch dont nous disposons, quand ceux-ci ont été préalable-

Tableau XI.
Absence d'alexine dans le sérum de rat chauffé.

Mélanges à parties égales	Phénomène de Pfeiffer
I. Emulsion de vibrions cholériques sensibilisés + eau physiologique	Amas de vibrions intacts et agglutinés + de très rares boules
II. Emulsion de vibrions cholériques sensibilisés + sérum de rat frais	amas de vibrions en boules
III. Emulsion de vibrions cholériques sensibilisés + sérum de rat chauffé 40 minutes à 56°	enormes amas de vibrions intacts très fortement agglutinés
IV. Emulsion de vibrions cholériques sensibilisés + sérum de rat frais dilué au $\frac{1}{10}$	amas de vibrions en boules (comme en II)
V. Emulsion de vibrions cholériques sensibilisés + sérum de rat frais dilué au $\frac{1}{25}$	une forte proportion des vibrions sont en boules dans les amas agglutinés

ment sensibilisés. Nous avons notamment réalisé le phénomène de Pfeiffer même avec du sérum de rat frais dilué avec 25 fois son volume d'eau physiologique. Ces essais ont été consignés dans le tableau XI ci-joint.

V.

Quelle est la repartition dans l'organisme des substances hémolytique, vibrionicide et bactéricide du sérum de rat?

Des travaux récents de l'école de M. Metchnikoff tendent à faire admettre que les substances actives des sérums spécifiques sont, outre les sensibilisatrices, d'une part une alexine agissant particulièrement contre les éléments figurés tels que globules rouges, spermatozoïdes, etc. et secrétée par les gros leucocytes mononucléaires, qu'il appelle la macrocytase; d'autre part une deuxième alexine, qu'il appelle la microcytase, élaborée par les phagocytes dits polynucléaires et qui exercerait une activité élective contre les microbes en général, tout spécialement les microbes provoquant des phénomènes inflammatoires aigus. De plus, la macrocytase serait surtout produite au siège de prolifération des gros mononucléaires, c'est à dire dans la rate, dans les ganglions lymphatiques, dans la portion ganglionnaire de l'épiploon, tandis que la microcytase se retrouverait dans la moelle des os.

A première vue, il semblerait que l'on puisse assimiler les substances actives du sérum de rat à celles des sérums spécifiques: nous avons affaire, en effet, à une propriété bactéricide d'une part, de l'autre à une action dissolvante sur les hématies, la première d'ailleurs peut être à une microcytase comme dans le choléra-sérum, la seconde à une macrocytase.

Que nous répond l'expérience quand nous éprouvons les extraits d'organes de rats à ces divers points de vue?

Nous avons saigné des rats à blanc et avons procédé au lavage du système circulatoire à l'aide d'eau physiologique, puis immédiatement après ces manipulations, nous leur avons enlevé les différents organes micro- et macrophagiques, à savoir la rate, la portion ganglionnaire de l'épiploon et la moelle osseuse, en observant les plus rigoureuses précautions d'asepsie.

Il nous a fallu, à chaque essai, réunir les organes de plusieurs animaux pour obtenir ces extraits, en raison de leur petitesse. Les rates ont été broyées à l'appareil de Latapie¹⁾; la moelle osseuse d'une part et l'épiploon de l'autre ont été triturés avec partie égale d'eau physiologique²⁾ dans un mortier d'agate flambé.

Les extraits après plusieurs heures de macération, alternativement à zéro et à 37 degrés, ont été centrifugés, et nous avons fait nos essais avec les liquides décantés.

Nous avons vérifié d'une part s'ils renfermaient de l'alexine hémolytique, de l'autre s'ils étaient bactéricides pour le charbon.

Nous donnons dans les Tableaux IX et X les résultats que nous avons obtenus.

Le tableau ci-dessus nous indique que les extraits d'organes de rat sont dépourvus de propriétés hémolysantes.

Les organes de rat tant macrophagiques (rate, épiploon) que micro-

1) Annales Pasteur. 1902. Décembre.

2) On ne peut employer l'eau distillée, car celle-ci est, par elle-même, hémolytique.

phagique (moelle des os) semblent donc dépourvus de l'alexine normale du sérum.

Tableau XII.

Absence du pouvoir hémolytique des extraits d'organes de rat.

Mélange 1, témoin. Sérum de rat frais 2 gouttes, eau physiologique 16 gouttes, hématies de poule sensibilisées puis 1 avées, 2 gouttes.	Hémolyse complète et rapide en $\frac{1}{4}$ heure à 37°.
Mélange 2. Extrait aqueux de rate de rat 2 gouttes, eau physiologique 8 gouttes.	Après addition d'hématies sensibilisées. Pas d'hémolyse même après 24 heures ni à l'œil nu ni au microscope.
Mélange 3. Extrait aqueux d'épiploon de rat 2 gouttes, eau physiologique 8 gouttes.	id.
Mélange 4. Extrait aqueux de moelle osseuse 2 gouttes, eau physiologique 8 gouttes.	id.

Tableau XIII.

Action bactéricide des extraits d'organes de rat sur le charbon.

Melanges	Nombre de colonies		
	au moment de l'ensemencement	après 4 heures	après 24 heures
1) Sérum de rat frais			
a) 4 gouttes, charbon vaccin I 2 anses	780	22	4
b) 4 gouttes, charbon Malfitano 2 anses	2976	1596	106
2) Extrait de rate			
a) 4 gouttes, charbon vaccin I 2 anses	352	260	32
b) 4 gouttes, charbon Malfitano 2 anses	∞	∞	∞
3) Extrait d'épiploon			
a) 4 gouttes, charbon vaccin I	∞	274	28
b) 4 gouttes, charbon Malfitano	∞	∞	∞
4) Extrait de moelle osseuse			
a) 4 gouttes, charbon vaccin I	760	70	6
b) 4 gouttes, charbon Malfitano	∞	∞	∞

Ces expériences nous montrent que si nous comparons l'action bactéricide du sérum de rat à celle des extraits d'organes, nous trouvons que le sérum est plus actif que les extraits vis à vis du charbon virulent qui ne paraît pas détruit par aucun de ces organes.

En ce qui concerne le vaccin charbonneux, les extraits ont exercé évidemment une action microbicide assez nette mais certainement moindre que celle du sérum. On ne peut invoquer la dilution par l'eau physiologique ajoutée aux organes broyés, car nous avons déjà constaté dans d'autres essais que même dilué au $\frac{1}{3}$, le sérum de rat exerce encore une action très énergique contre le vaccin I. (Voir le tableau I.)

Nous sommes porté à croire que le pouvoir bactéricide constaté vis-à-vis du vaccin I est dû à des substances actives du sang dont il n'a pas été possible de débarrasser complètement les organes, mais en quantité insuffisante pour provoquer l'hémolyse.

On peut conclure de ces recherches que l'alexine et la sub-

stance bactéricide du sérum de rat sont surtout abondantes dans le sang et ne paraissent pas secrétées par les organes où d'après Metchnikoff s'élaboreraient les macro- et microcytase: il serait donc prématuré d'assimiler les substances bactéricide d'une part, hémolytique d'autre part du sérum normal de rat aux micro- et macrocytases des sérums obtenus par voie d'immunité artificielle.

Commentaires.

De cette étude sur le pouvoir bactéricide des sérums normaux, en particulier du sérum de rat si intéressant par ses diverses propriétés, que pouvons nous conclure en ce qui concerne le rôle des propriétés microbicides dans l'immunité naturelle?

On sait que l'on a fait jouer un rôle très considérable à ce pouvoir bactéricide in vitro des humeurs normales pour expliquer l'état réfractaire des organismes vis-à-vis de certaines maladies microbiennes.

Et nombreux sont les auteurs qui aujourd'hui encore invoquent ces propriétés dans l'interprétation de l'immunité naturelle, se basant principalement sur la relation qu'ils établissent entre l'immunité dont jouirait le rat vis-à-vis de l'infection charbonneuse et le pouvoir bactéricide considérable de son sérum.

Malheureusement pour cette théorie, le rat n'est pas réfractaire au charbon.

Metchnikoff et Sawtchenko l'ont prouvé notamment en poussant l'injection bacillaire chez cet animal de façon à soustraire les microbes à l'influence destructrice du sang épanché: dans ces conditions, on voit succomber un certain nombre de rats. Dans les essais que nous avons faits, nous avons pu tuer des rats même au moyen du I. vaccin du charbon en introduisant les bactériidies à un endroit où la vascularisation est restreinte et les tissus très serrés, sous la peau de la queue.

Mais Metchnikoff n'en attache pas moins une grande importance au principe bactéricide du sang entravé, lequel, d'après lui, provient de la destruction des leucocytes polynucléaires.

Il admet que ces leucocytes sécrètent cette alexine microbicide, une microcytase, différente de l'alexine hémolytique normale élaborée par les grands mononucléaires, la macrocytase. Suivant les idées défendues par Metchnikoff, si le rat succombe au charbon malgré la microcytase présente dans les phagocytes, c'est que précisément la phagocytose ne se produit pas chez cet animal, les bacilles du charbon se multipliant en dehors des globules blancs repoussés par le pouvoir chimiotactique négatif des bactériidies virulentes, et incapables dans ces conditions de capturer ces dernières.

Telle est l'interprétation à laquelle semble se rallier Metchnikoff. On ne peut nier les observations qui ont montré l'inactivité phagocytaire du rat vis-à-vis du charbon dans les cas où cet animal succombe.

Mais la cause de cette inactivité ne doit elle pas être attribuée justement à ce que les humeurs manquent d'une substance dont le concours dans l'immunité est de haute importance, comme l'ont magistralement démontré Bordet et Pfeiffer, la substance sensibilisatrice ou fixatrice et dont une propriété essentielle est de favoriser la phagocytose. En d'autres termes, si l'importance de l'intervention cellulaire est considérable dans la défense de l'organisme, on doit, nous semble-t-il, admettre en outre que cette intervention même est très nettement sous la dépendance des propriétés humorales et est notamment commandée

par la présence de sensibilisatrices spécifiques. En conséquence, nous nous demandons si la manière de voir de Metchnikoff, n'est pas trop absolue quand ce savant écrit (L'Immunité. p. 212) que la question des fixateurs des sérums neufs ne présente pas d'intérêt essentiel au point de vue de l'immunité.

Certes, la substance bactéricide pour le charbon du sérum de rat n'a guère d'importance dans l'immunité de cet animal contre cette maladie. Mais il faut remarquer justement que cette substance n'est pas un fixateur pas plus qu'elle n'est une alexine.

En effet, nos expériences ont établi que dans la destruction des bactéries par le sérum de rat normal, les substances qui interviennent n'ont aucun des caractères particuliers soit des alexines soit des sensibilisatrices.

Il semble bien qu'il s'agisse là d'une substance accidentelle; il ne faut pas oublier que les bacilles du charbon sont beaucoup plus fragiles que leurs spores et sont détruits par toute une série de substances ajoutées aux milieux nutritifs où germent les spores, même par des substances purement minérales à doses relativement faibles.

Quoi qu'il en soit, les principes bactéricides du sérum de rat n'étant que des produits accidentels, ils n'ont pas, à notre avis, l'importance qu'on a voulu leur attribuer dans le problème général de l'immunité.

Il en est tout autrement, par contre, des propriétés humorales du rat vis-à-vis du choléra.

Ici, la destruction des vibrions est due manifestement, comme on l'a vu, à l'action combinée d'une sensibilisatrice et de l'alexine normale du sérum. Le sérum du rat, qui est réfractaire au choléra, alors que cet animal est sensible au charbon, doit son pouvoir vibrionicide aux mêmes substances qui confèrent au sérum des animaux immunisés contre le bacille-virgule des propriétés si remarquables¹⁾.

Et l'immunité naturelle du rat contre le choléra ne diffère pas, au fond, de l'immunité artificielle: les propriétés humorales spécifiques ont, de part et d'autre, une grande importance.

Dans le cas du choléra, le sérum est vibrionicide *in vitro* comme *in vivo*. Mais les humeurs peuvent renfermer des sensibilisatrices spécifiques, permettant à la phagocytose de s'accomplir, sans que le sérum soit forcément microbicide *in vitro*.

Si le vibron cholérique est détruit par le sérum, c'est qu'il s'agit d'un microbe d'une fragilité toute particulière.

Beaucoup d'autres microbes ne sont pas tués *in vitro* malgré la présence de fixateurs dans leur sérum spécifique. Au laboratoire de M. Malvoz, on a injecté pendant plusieurs mois des vaccins du charbon au mouton; l'immunité a été poussée aussi loin que possible. Après ces multiples injections, le sérum renfermait une sensibilisatrice spécifique, mais *in vitro* il n'était nullement bactéricide pour le charbon, pas plus que le sérum normal du mouton.

Voilà donc un animal vacciné très solidement, qui doit son immunité à des propriétés humorales particulières lesquelles ne se traduisent pas *in vitro* par une action microbicide quelconque. M. Malvoz²⁾ a encore démontré que le chien adulte qui est l'animal le moins sensible

1) Ces substances doivent être évidemment en quantités moins considérables que dans le sérum des animaux artificiellement vaccinés.

2) *Annales Pasteur*. I. c.

au charbon que nous connaissons, possède un sérum contenant une sensibilisatrice spécifique pour la bactériodie, alors que ce sérum n'est nullement bactéricide in vitro.

Les jeunes chiens, qui sont beaucoup plus sensibles au charbon, ont, d'après M. Malvoz, un sérum dépourvu de fixateur. Le fameux pouvoir bactéricide des humeurs normales, tant invoqué pour l'explication de l'immunité naturelle, ne nous semble en réalité avoir de l'importance que dans les cas où il résulte de l'action combinée d'une sensibilisatrice spécifique et d'une alexine comme c'est le cas pour le rat vis-à-vis du choléra. Les humeurs peuvent être très efficaces dans la défense de l'organisme, peuvent donc posséder un véritable pouvoir protecteur sans que celui-ci soit forcément un pouvoir bactéricide in vitro.

Il n'y a identité entre le pouvoir protecteur des humeurs et leur pouvoir bactéricide in vitro que dans les cas de microbes très fragiles où la sensibilisatrice parvient même en dehors du corps à tuer les microbes avec le concours de l'alexine: tel est le cas du choléra.

Pour ce microbe, pouvoir protecteur et pouvoir bactéricide in vitro marchent de pair; mais la sensibilisatrice peut dans d'autres cas être très efficace pour la défense sans donner lieu à un vrai pouvoir bactéricide in vitro: tel est le cas du chien, du mouton vacciné vis-à-vis du charbon.

Dans le domaine de la bactériologie, peut-être plus qu'ailleurs encore, nous devons nous garder des généralisations trop hâtives: il n'y a en réalité que des cas particuliers. Nous sommes loin de vouloir prétendre que l'immunité naturelle dont nous nous sommes plus particulièrement occupé, doit toujours trouver son explication dans les propriétés des sérums que nous avons envisagées dans le présent travail. Bien d'autres facteurs interviennent sans aucun doute.

Mais nous croyons avoir établi que dans un certain nombre de cas déterminés et pour des microbes donnés, il existe une relation qui nous paraît certaine entre la présence des propriétés découvertes par Bordet dans les sérums et l'état d'immunité naturelle.

Conclusions.

1) Le sérum normal de rat possède une action microbicide, encore intacte après chauffage à 56°, sur les bacilles du même groupe naturel que le *Bacillus anthracis*.

Le même sérum exerce sur le vibrion cholérique de Koch une action destructrice disparaissant après chauffage à 56°.

2) Dans l'action vibrionicide, il y a mise en jeu d'une sensibilisatrice et d'une agglutinine spécifiques, et de l'alexine normale du sérum.

Tandis que l'alexine hémolytique et vibrionicide se comporte comme un seul et même principe, les essais de chauffage, de conservation, de filtration, de neutralisation, de dépouillement de l'alexine hémolytique du sérum etc. démontrent que la substance bactéricide pour le charbon est toute différente des substances vibrionicide et hémolytique.

3) La substance bactéricide pour le charbon ne possède aucun des caractères rentrant dans la définition des alexines de Buchner, son injection notamment ne donne pas de substance antibactéricide; cette substance paraît être, comme l'avait déjà prévu Behring, en rapport avec une base dont la neutralisation, tout en maintenant l'activité hémolytique et vibrionicide du sérum de rat, fait disparaître la propriété destructrice pour le charbon.

4) Dans la destruction du charbon par le sérum de rat, n'intervient ni sensibilisatrice, ni agglutinine ni alexine proprement dite.

5) L'inertie des organes de défense chez le rat injecté de charbon paraît en rapport avec l'absence de sensibilisatrice spécifique pour ce microbe, tandis que le contraire s'observe vis-à-vis du choléra.

6) Le pouvoir microbicide des sérums acquiert surtout de l'importance quand il résulte de la collaboration d'une alexine et d'une sensibilisatrice spécifique.

Il n'y a identité entre le pouvoir protecteur des humeurs et leur pouvoir bactéricide in vitro que dans les cas (microbes fragiles) où la sensibilisatrice parvient in vitro avec le concours de l'alexine à tuer les microbes¹⁾.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft,
Kunst und Literatur in Böhmen.

X. Die künstliche Immunität des Kaninchens.

Von Professor Dr. Oskar Ball, Assistenten des Institutes.

(Schluß.)

Da es selbstredend von Wichtigkeit ist, festzustellen, was unter „Immunkörper“ zu verstehen sei, so möge hier die zum Nachweise benutzte Methodik im Detail wiedergegeben werden. Höchstens 14–16-stündige Agarkulturen wurden in bestimmten Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, so daß z. B. eine Agarkultur auf 3 ccm

1) Une partie des recherches du présent travail a été exposée dans un mémoire adressé le 15 Mai 1903 au jury du gouvernement belge, pour le concours des bourses de voyage. Or, le 25 Mai suivant paraissait dans les Annales Pasteur un travail de M. Remy sur la Pluralité des Alexines. Les conclusions sont toutes différentes des nôtres: nous laissons au lecteur le soin de comparer et de juger.

Plusieurs causes d'erreur sautent aux yeux à la lecture du mémoire de M. Remy, on ne peut, notamment, savoir quelle a été la quantité de microbes ensemencés dans chaque culture; de plus, l'auteur ne tient aucun compte de ce que l'agglutination gêne l'évaluation du pouvoir bactéricide réel en abaissant fortement le nombre des colonies: c'est le cas, notamment, pour ses mélanges de sérum normal chauffé de rat + choléra sérum chauffé: dans ce mélange il y a superposition des deux influences agglutinantes; M. Remy ignorait sans doute l'action agglutinante du sérum de rat pour le choléra etc.

D'autres travaux, publiés depuis l'envoi de notre mémoire au gouvernement belge, sembleraient établir (Bail et Pettersson notamment) l'existence de sensibilisatrices spécifiques dans de nombreux sérums normaux. Mais la méthode consiste à mélanger des sérums de diverses espèces animales et dans les cas où on observe une destruction des germes microbiens ajoutés à ces mélanges, dont les constituants pris isolément sont peu ou point actifs, on parle de sensibilisatrices ou Immunkörper. Nous croyons que c'est beaucoup trop étendre la signification des sensibilisatrices, dont la propriété principale est d'après Bordet, de fixer l'alexine du sérum correspondant. Au point de vue de l'immunité naturelle notamment, de quelle utilité pour la défense d'un animal pourrait être une prétendue sensibilisatrice n'agissant qu'avec le concours d'une alexine provenant d'une autre espèce animale?

Flüssigkeit kam. Sollte dann $\frac{1}{3}$ Kultur verwendet werden, so wurde 1 ccm der Aufschwemmung nach Auffüllung der Eprovette auf ca. 15 ccm NaCl-Lösung völlig klar zentrifugiert, womit gleichzeitig eine Reinigung von beigemengtem Kondenswasser erzielt wurde. Nach Abgießen der obenstehenden Flüssigkeit kam der aus reinen, bei der verwendeten Kultur nur sehr wenig versporteten Bacillen bestehende Satz auf $\frac{1}{2}$ Stunde in strömenden Dampf, worauf das zu untersuchende Serum zugesetzt und $\frac{1}{2}$ —1 Stunde bei 37° unter öfterem Umschütteln gehalten wurde. War es nach völliger Abzentrifugierung der Bacillen möglich, das abgegossene Serum mit geringen Mengen aktiven Kaninchenserums wirksam zu ergänzen, so waren noch Immunkörper vorhanden; im entgegengesetzten Falle war völlige Absorption eingetreten. Die bereits in den früheren Abhandlungen mitgeteilten Versuche mit dem Serum verschiedener Tiere haben die Brauchbarkeit der Methode dargetan. Die folgenden Kaninchenversuche bestätigen dies. Dabei wird der Nachweis der Immunkörper im Kaninchenserum dadurch erleichtert, daß regelmäßig dessen eigene bakterizide Wirkung durch Bacillenabsorption früher vernichtet wird als seine Ergänzungsfähigkeit; nebenbei bemerkt, ein Verhalten, das die sonderbaren und sehr an die eines Immunsersums erinnernden Eigenschaften normalen Kaninchenserums sehr auffällig macht.

Die beiden Kaninchen, deren Serumuntersuchung vor und nach der Immunisierung mitgeteilt wird, besaßen von vornherein ganz verschiedene Sera. No. 71 zeigte die starke Bakterizidie und den hohen Immunkörpergehalt, der für normales Kaninchenserum ziemlich die Regel ist. Bei No. 72 war beides ungewöhnlich schwach entwickelt.

Tabelle VI.

Immunkörperbestimmung der Kaninchensera 71 und 72 vor der Immunisierung.

		Einsaat	Nach 4 Stunden	
			Kaninch. 71	Kaninch. 72
1)	1 ccm Serum		0	32
2)	1 " " mit $\frac{1}{3}$ Agarkult. behand.		1952	3800
3)	1 " " " $\frac{1}{3}$ " " + 0,05 ccm akt. Kan.-S.	Mittel	101	3920
4)	1 " " " $\frac{1}{2}$ " " " " + 0,05 ccm akt. Kan.-S.		1280	5400
5)	1 " " " $\frac{1}{2}$ " " " " + 0,05 ccm akt. Kan.-S.	im	320	4240
6)	1 " " " 1 " " " " + 0,05 ccm akt. Kan.-S.		4200	4640
7)	1 " " " 1 " " " " + 0,05 ccm akt. Kan.-S.	285	5048	4800

Nach der Immunisierung war präzipitierende Wirkung und Schutzwert beider Kaninchensera sehr ausgesprochen.

Kaninchen 140. 2 ccm Serum 71 intravenös, 1320 Bacillen subkutan. Lebt, ohne Krankheitszeichen.

Kaninchen 141. 1 ccm Serum 71 intravenös, sonst wie 140. Lebt, ohne Krankheitszeichen.

Kaninchen 142. 0,5 ccm Serum 71 intravenös, sonst wie 140. Am nächsten Tage abgegrenztes Oedem, das am 3. Tage bis auf ein kleines, hartes Infiltrat um die Injektionsstelle verschwunden ist. Lebt.

Kaninchen 143. 2 ccm Normalkaninchenserum intravenös, sonst wie 140. Stirbt am nächsten Tage, nach ca. 36 Stunden. Typisch.

Kaninchen 122. 2 ccm Serum 72 intravenös, $\frac{1}{2}$ Stunde später 0,2 ccm virulentes Kaninchenoedem = 904 Bacillen subkutan. Bleibt ohne Krankheitszeichen. Am 4. Tage nach der Infektion wurde an dem Tiere ein komplizierter Bruch des Unterschenkels bemerkt, an dem das Tier zu Grunde ging. In der Milz lange, schlanke Stäbchen. Kulturen blieben steril.

Kaninchen 123. 1 ccm Serum intravenös, sonst wie 122. Lebt, ohne Krankheit.

Kaninchen 124. 0,25 ccm Serum intravenös, sonst wie 122. Stirbt nach 36 bis

43 Stunden. Kein Oedem; Milz wenig vergrößert, mit reichlichem Bacillengehalte. Bacillen fast nur in Fäden, oft zu Haufen vereint.

Kaninchen 125. 2 ccm Normalserum, sonst wie 122. Stirbt nach 36—43 Stunden. Typisch.

Tabelle VII.

Immunkörperbestimmung der Kaninchensera 71 und 72 nach der Immunisierung.

	Kaninchen 71		Kaninchen 72	
	Einsaatz	nach 4 Stdn.	Einsaatz	nach 4 Stdn.
1) 1 ccm Serum		0		2
2) 1 " " m. $\frac{1}{3}$ Agarkult. behandelt	Mittel	8800	Mittel	2880
3) 1 " " " $\frac{1}{3}$ " " + 0,05 ccm a. K.-S.		4168		1288
4) 1 " " " $\frac{1}{2}$ " " " " + 0,05 ccm a. K.-S.	im	7040	im	9700
5) 1 " " " $\frac{1}{2}$ " " " " + 0,05 ccm a. K.-S.		6328		6552
6) 1 " " " 1 " " " " + 0,05 ccm a. K.-S.	612	8960	570	} ca. 10 000
7) 1 " " " 1 " " " " + 0,05 ccm a. K.-S.		ca. 10 000		

Es hat somit der Immunisierungsvorgang, der sowohl in Bezug auf Erlangung aktiver Immunität wie auf das Auftreten von Schutzstoffen im Serum erfolgreich war, weder beim Schafe eine Neuerzeugung noch beim Kaninchen eine Vermehrung der extravaskulär nachweisbaren Immunkörper herbeigeführt. Daß bei Kaninchen 71 sogar eine starke Verminderung zu beobachten war, ist wohl Folge der auch sonst zu beobachtenden Schwankungen im Verhalten des Serums eines und desselben Tieres. Genau wie das Serum der hochimmunen Hunde Petersons, hat somit auch das anderer künstlich immunen Tiere nicht den Charakter eines bakteriziden, wie er z. B. nach Typhusimmunisierung eintritt.

Daraus folgt aber keineswegs, daß nunmehr auch eine bakterizide Wirkung im Tierkörper ausbleiben müsse. Mag die Wirkungsweise des Schutzserums und die Ursache der aktiven Immunität welche immer sein, die infizierenden Bacillen müssen abgetötet werden, wenn Krankheit und Tod nicht eintreten soll. Es spricht sehr vieles in den mitzuteilenden Versuchen dafür, daß die Abtötung mit den gewöhnlichen Mitteln, über die der Organismus verfügt, erfolgt und daß aktive wie passive Immunisierung nur die Vermehrung der injizierten Bacillen hindern. — Untersucht man die bakteriziden Verhältnisse im Körper immuner und normaler Kaninchen unter Berücksichtigung der in den früheren Abschnitten dieser Untersuchungen gefundenen, hier nicht mehr zu wiederholenden Momente, so ergibt sich ein deutlicher Unterschied nicht. Erst wenn die Tiere unter dem Einflusse einer vorhergegangenen Infektion stehen und zwar besonders dann, wenn dieselbe entweder eine sehr schwere war oder seither eine längere Zeit verstrich, werden die Differenzen gut sichtbar.

Das Auffälligste ist dabei der gewaltige Unterschied im Bacillengehalte der Organe normaler und der aktiv oder passiv geschützter Kaninchen.

Tabelle VIII.

Bacillengehalt von je 1 Oese Organbrei.

A. Aktiv immunisiertes Kaninchen No. 62¹⁾ und Kontrollkaninchen No. 91 19 Stunden nach intravenöser Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur verblutet.

	No. 62	No. 91
Leber	2	3264
Milz	0	über 10 000
Niere	7	8720
Knochenmark	1	1848

1) Mit Kaninchenödem behandelt.

B. Aktiv immunisiertes Kaninchen 106¹⁾ und Kontrollkaninchen 144 20 Stunden nach intravenöser Injektion von 1,5 ccm Bouillonkultur verblutet.

	No. 106	No. 144
Leber	1	9800
Milz	3	∞
Niere	0	ca. 12 000
Knochenmark	0	6780

C. Passiv immunisiertes (5 ccm Schafserum intravenös) Kaninchen 138 und Kontrollkaninchen 139 20 Stunden nach intravenöser Injektion von 1/2 ccm schwach gewachsener Bouillonkultur verblutet.

	No. 138	No. 139
Leber	5	131
Milz	9	1760
Niere	2	74
Knochenmark	0	87

D. Passiv immunisiertes Kaninchen 100 (5 ccm Serum des Oedemkaninchens 24 intravenös) und Kontrollkaninchen 101, 18 Stunden nach Injektion von 1/4 ccm Bouillonkultur verblutet.

	No. 100	No. 101
Leber	16	784
Milz	27	2192
Niere	6	1408
Knochenmark	5	688

Trotz dieses Unterschiedes bleibt aber auffallend, daß nach so relativ langer Zeit im Körper der immunen Tiere überhaupt noch lebende Bacillen zu finden sind. Bei der meist so außerordentlichen Wirkung des Kaninchenserums würden nicht viele Kubikcentimeter davon nötig sein, um 1/4 oder 1/2 ccm Bouillonkultur binnen kurzer Zeit zu sterilisieren. Wenn dennoch im lebenden Tiere die Bacillen so lange am Leben bleiben, so beweist dies nur neuerlich, daß in den Organen eine Serumwirkung analog der in vitro nicht stattfinden kann und weiter, daß auch das, wie z. B. No. 106, hochgradig immune Kaninchen nur langsam mit den injizierten Bacillen fertig wird. Das sieht nicht nach bakterizider Immunserumwirkung aus, erinnert aber an das ganz entsprechende Verhalten beim natürlich immunen Huhne.

Tabelle IX.

Aktiv immunisiertes Kaninchen 106 und Normalkaninchen 144 20 Stunden nach intravenöser Injektion von 1,5 ccm Bouillonkultur verblutet (s. Tab. VIII). Einsaat erfolgt nur in einem Teile der Proben von 106.

	Kaninchen 106		Kaninchen 144	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
A. Ohne Einsaat				
1) 1 ccm Serum	0	0	8	
2) 1 " " + Leber	7	0	8 200	}
3) 1 " " + Milz	—	—	∞	
4) 1 " " + Niere	3	0	11 360	
5) 1 " " + Knochenmark	1	0	6 648	
6) 1 " " + " + Leber	12	0	14 200	
7) 1 " " + " + Milz	—	—	∞	
8) 1 " " + " + Niere	0	0	15 800	
B. Mit Einsaat				
9) 1 ccm Serum		0		
10) 1 " " + Leber	1528 im Mittel	4600		
11) 1 " " + Milz		368		
12) 1 " " + Niere		3200		
13) 1 " " + Knochenmark		228		
14) 1 " " + " + Leber		1440		
15) 1 " " + " + Milz		133		
16) 1 " " + " + Niere		984		

1) Durch Kombination von passiver mit Oedemimmunisierung geschützt.

Tabelle X.

Aktiv immunisiertes Kaninchen 62 und Normalkaninchen 91 19 Stunden nach intravenöser Injektion von 1/2 ccm Bouillonkultur verblutet (s. Tab. VIII).

	Kaninchen 62		Kaninchen 91	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
A. Ohne Einsaat				
1) 1 ccm Serum	0	0	0	0
2) 1 " " + Leber	3	0	2600	3200
3) 1 " " + Milz	0	0	üb. 10000	∞
4) 1 " " + Niere	2	0	3280	∞
5) 1 " " + Knochenmark	1	0	1420	2640
6) 1 " " + " + Leber	5	0	2560	2960
7) 1 " " + " + Milz	2	4	üb. 10000	üb. 10000
8) 1 " " + " + Niere	—	—	4200	üb. 10000
B. Mit Einsaat				
9) 1 ccm Serum		0		
10) 1 " " + Leber		2300		
11) 1 " " + Milz		820		
12) 1 " " + Niere		3600		
13) 1 " " + Knochenmark		0		
14) 1 " " + " + Leber		112		
15) 1 " " + " + Milz		71		
16) 1 " " + " + Niere	2829 im Mittel	320		

Tabelle XI.

Aktiv immunisiertes Kaninchen 42 und Normalkaninchen 73 18 Stunden nach intravenöser Injektion von 1/2 ccm Bouillonkultur verblutet. Mikroskopisch lassen sich in allen Organen von 73 Bacillen finden, in denen von 42 fehlen sie. Das Serum von 42 schützte in der Menge von 3 ccm intravenös ein Kaninchen vor 1048 subkutan injizierten Bacillen (genauer wurde der Schutzwert nicht untersucht).

	Kaninchen 42		Kaninchen 73	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
A. Ohne Einsaat				
1) 1 ccm Serum	0	0	0	0
2) 1 " " + Leber	1	0	1348	3848
3) 1 " " + Milz	2	0	2968	} üb. 10000
4) 1 " " + Niere	1	0	4720	
5) 1 " " + Knochenmark	0	0	848	3040
6) 1 " " + " + Leber	2	0	1760	2960
7) 1 " " + " + Milz	1	0	3528	} üb. 10000
8) 1 " " + " + Niere	1	0	3920	
B. Mit Einsaat				
9) 1 ccm Serum		0		
10) 1 " " + Leber		0		
11) 1 " " + Milz		0		
12) 1 " " + Niere		0		
13) 1 " " + Knochenmark		0		
14) 1 " " + " + Leber		0		
15) 1 " " + " + Milz		0		
16) 1 " " + " + Niere	79 im Mittel	0		

Auch dann, wenn man mit den Organen infizierter immuner Kaninchen und deren Serum extravaskuläre Versuche macht, wiederholt sich das, was für das Huhn gefunden worden war und was Pettersson ganz ähnlich beim immunisierten Hunde gefunden hatte: Das Serum wird durch Organzellenzusatz meist so geschädigt, daß der Milzbrandbacillus mehr oder weniger gut wächst; setzt man aber gleichzeitig Knochenmarkszellen zu, so tritt Abtötung oder mindestens anhaltende Entwicklungshemmung ein. Bisweilen besteht auch schon bei bloßen Serumorganmischungen bakterizide Wirkung; dies fällt namentlich auf für die Milz, deren Zellen sonst beim normalen Tiere am allerstärksten die Serumbakterizidie aufheben, was für natürliche Verhältnisse durch die Erscheinung sich ausdrückt, daß in der Milz eines infizierten Tieres die Bacillen immer am frühesten und reichlichsten zur Entwicklung kommen.

Die Technik der Versuche war dieselbe, die im VII. und VIII. Abschnitt dieser Untersuchungen angewendet worden war. Nur zur Gewinnung von Knochenmarkszellen wurde die von Hoke¹⁾ angegebene Methode des Waschens mit Kochsalzlösung angewendet, welche durch Beseitigung des größten Teiles des Fettes ein leichteres und quantitativ genaueres Arbeiten gestattet. Uebrigens ist es einer der regelmäßigsten Befunde, daß das Knochenmark infizierter Tiere in seinem Fettgehalte reduziert ist; das läßt sich am deutlichsten am Unterschenkel des Kaninchens erkennen, dessen Knochenmark beim normalen Tiere in der unteren Hälfte reines Fettmark ist, während es beim infizierten immer mehr oder weniger rot ist. Sonstige makroskopisch sichtbare Veränderungen des Markes, z. B. abnorme Dunkelfärbung, weiche, zerfließliche Beschaffenheit u. dergl., kamen oft zur Beobachtung, ohne aber regelmäßig zu sein.

Untersucht man die bakteriziden Verhältnisse in den Organen passiv immuner Kaninchen, so findet man eine Art Mittelstellung zwischen dem Verhalten aktiv immuner und normaler Tiere (s. Tabellen XII, XIII u. XIV.)

Ueberblickt man die Tabellen, so ergibt sich sogleich, daß der wesentliche Unterschied zwischen normalen und passiv immunisierten Tieren in der geringen Zahl der lebenden Bacillen nach der Infektion liegt. Hier besteht eigentlich kein Unterschied zwischen aktiver und passiver Immunität.

Im bakteriziden Versuche mit Serumorganmischungen verhalten sich aber passiv immune Tiere ziemlich ebenso wie normale. Die aus den Tabellen ersichtlichen Differenzen zwischen beiden sind nicht so groß, daß sie nicht durch die verschiedene Bacillenmenge (bei den ohne Einsaat belassenen Proben) einerseits, durch die verschiedene Ausbildung des normalen bakteriziden Abwehrmechanismus andererseits erklärt werden könnten. Es läßt sich demnach mit Sicherheit sagen, daß von

Tabelle XII.

Kaninchen 95 erhält 5 ccm Immunsrum von Kaninchen 24, Kaninchen 96 ebensoviel Normalserum intravenös. $\frac{1}{2}$ Stunde später wird beiden Tieren je $\frac{1}{4}$ ccm Bouillonkultur, ebenfalls intravenös, injiziert. Nach 16 Stunden werden beide verblutet (5 ccm Immunsrum schützten andere Kaninchen vollständig).

	Kaninchen 95		Kaninchen 96	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
A. Ohne Einsaat				
1) 1 ccm Serum	0		0	0
2) 1 " " + Leber	3	}	7	3
3) 1 " " + Milz	2		768	1056
4) 1 " " + Niere	2		63	8
5) 1 " " + Knochenmark	0		23	7
6) 1 " " + " + Leber	4		22	52
7) 1 " " + " + Milz	2		928	67
8) 1 " " + " + Niere	1		70	46
B. Mit Einsaat				
9) 1 ccm Serum		192		496
10) 1 " " + Leber	3325 Bacillen pro Oese zugesetzt	6 200	3325 Bacillen pro Oese zugesetzt	6 380
11) 1 " " + Milz		2 700		5300
12) 1 " " + Niere		8 000		6900
13) 1 " " + Knochenmark		2 624		4600
14) 1 " " + " + Leber		7 000		7200
15) 1 " " + " + Milz		10 500		8300
16) 1 " " + " + Niere		9 800		7300

1) Zeitschr. f. Heilk. 1904.

Tabelle XIII.

Kaninchen 100 erhält 5 ccm Immuns Serum von Kaninchen 24, Kaninchen 101 ebensoviel Normalserum intravenös, nach 1/4 Stunde je 1/4 ccm Bouillonkultur ebenfalls intravenös. 18 Stunden später verblutet (s. Tab. VIII).

	Kaninchen 100		Kaninchen 101	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
A. Ohne Einsaat				
1) 1 ccm Serum	0	0	0	0
2) 1 " " + Leber	12	14	224	344
3) 1 " " + Milz	8	0	1040	1368
4) 1 " " + Niere	11	22	432	720
5) 1 " " + Knochenmark	2	0	224	152
6) 1 " " + " + Leber	19	1	304	832
7) 1 " " + " + Milz	10	0	1128	1456
8) 1 " " + " + Niere	18	3	392	504
B. Mit Einsaat				
9) 1 ccm Serum		36		27
10) 1 " " + Leber	3924 Bacillen pro Oese zugesetzt	15 000	3924 Bacillen pro Oese zugesetzt	
11) 1 " " + Milz		5 760		} ca. 20 000
12) 1 " " + Niere		13 200		
13) 1 " " + Knochenmark		4 880		} 6560
14) 1 " " + " + Leber		8 300		
15) 1 " " + " + Milz		12 200		} ca. 20 000
16) 1 " " + " + Niere		9 900		

Tabelle XIV.

Kaninchen 138 erhält 5 ccm Schafimmuns Serum intravenös, 139 ebensoviel Normalserum, 1/4 Stunde später 1/4 ccm schwach gewachsener Bouillonkultur, gleichfalls intravenös. Nach 20 Stunden werden beide verblutet (s. Tab. VIII). Einem Teil der Proben wird noch je 0,05 ccm aktives Schafimmuns Serum zugesetzt. Ueberall kleine Einsaat.

	Kaninchen 138		Kaninchen 139	
	sofort	n. 4 Std.	sofort	n. 4 Std.
1) 1 ccm Serum	117	0	131	0
2) 1 " " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	0	—	0
3) 1 " " + Leber	120	1904	248	2400
4) 1 " " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	2088	—	2728
5) 1 " " + Milz	136	1440	1152	5000
6) 1 " " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	1384	—	3232
7) 1 " " + Niere	167	2128	272	3680
8) 1 " " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	1936	—	4032
9) 1 " " + Knochenmark	192	71	272	820
10) 1 " " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	132	—	296
11) 1 " " + Leber	150	43	290	728
12) 1 " " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	144	—	2880
13) 1 " " + " + Milz	182	928	1048	4720
14) 1 " " + " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	2080	—	über 5000
15) 1 " " + " + Niere	118	75	200	1768
16) 1 " " + " + " + 0,05 ccm Immuns Serum	—	192	—	1976

der Immuns Seruminjektion her kein außergewöhnliches milzbrandtötendes Agens im Körper zurückgeblieben ist. Was an Bacillenvernichtung geleistet werden kann, erfolgt mit den normalen Kräften des Organismus; die Seruminjektion tut nichts hinzu, wie denn auch im extravasculären Versuche ein Zusatz ansehnlicher Mengen von Immuns Serum den Versuchsproben keinerlei bakterizide Wirkung erteilt, wenn nicht schon ohnedies eine solche bestand.

In Uebereinstimmung mit dem was die Immunkörperbestimmung ergeben hatte, wird auch durch diese Versuche der Charakter des Immuns Serum als nichtbakterizider bestimmt.

Außer bakteriziden kennt man antitoxische Immuns Serum. Ob das gegen Milzbrand wirksame zu diesen zu zählen ist, läßt sich nicht mit gleicher Sicherheit abweisen. Immerhin ist eine antitoxische Wir-

kung aus zwei Gründen recht unwahrscheinlich: 1) hat das zur Immunisierung benutzte Oedem nichts von Giftwirkung an sich. Kleine Kaninchen vertragen selbst 10 ccm ohne irgendwelche Krankheitszeichen. Auch sonst hat ja bekanntlich das Suchen nach dem Milzbrandgifte bisher zu keinem Resultate geführt (Conradi). 2) Würde das Gift erst innerhalb des tierischen Körpers erzeugt, so müßte dem doch eine Vermehrung der eingespritzten Bacillen vorausgehen; daß die in $\frac{1}{4}$, oder $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur vorhandenen Bacillen es schon an sich enthalten, kann man sich wohl kaum vorstellen; setzt doch der Nachweis intracellulärer Gifte (Levy) verhältnismäßig ungeheure Bacillennengen voraus. Die Versuche zeigen aber, daß das Charakteristikum der Milzbrandimmunität darin besteht, daß eine Vermehrung der eingespritzten Bacillen ausbleibt und diese von den normalen keimfeindlichen Elementen, unter denen die Zellen des leukocyten Apparates voranstehen, vernichtet werden. Wenn auf Grund dieses Befundes eine Erklärungsmöglichkeit der Milzbrandimmunität versucht wird, so soll das Folgende mit aller Vorsicht und selbst unter Vorbehalt etwaiger Korrekturen erwähnt werden.

Da die eingehenden Versuche das Vorhandensein eines bakteriziden Abwehrmechanismus selbst beim empfindlichsten Tiere, dem Meer-schweinchen, erwiesen haben, so entsteht die Frage, wieso denn die Infektion eines Tieres durch einen einzigen oder sehr wenige Bacillen überhaupt möglich ist. Denn mag dieser Abwehrvorgang auch noch so rudimentär ausgebildet sein, einige Hundert Bacillen muß er im bakteriziden Plattenversuche doch vernichten oder hemmen, um überhaupt bemerklich zu werden. Daß aber Aehnliches, mindestens eine Hemmung, auch im Tierkörper vorhanden sein muß, beweist die Erscheinung, daß eine Keimzahlbestimmung in den Organen, kurze Zeit (bis 6 Stunden) nach der Infektion eine erhebliche Bacillenvermehrung nicht erkennen läßt. Soll sie später erfolgen, so müssen die Bacillen die Fähigkeit haben, die Abwehrkräfte des Organismus lahmzulegen. Nach der üblichen Vorstellungsweise denkt man sich das am leichtesten als Absonderung eines Stoffes mit dieser Wirkung seitens der Bakterien. Eine ähnliche Vorstellung hatte bereits vor längerer Zeit, hauptsächlich auf Grund theoretischer Erwägungen, Kruse geäußert und die hypothetischen Abwehrstoffe als Lysine¹⁾ bezeichnet. Solche Lysine sind zum Teil schon bekannt und haben sicher eine hohe Bedeutung, wie z. B. das Leukocidin van de Veldes und die negativ chemotaktischen Stoffwechselprodukte vieler pathogenen Mikroorganismen.

Vermag ein Milzbrandbacillus Lysin zu bilden, so hält er dadurch die normalen Schutzvorrichtungen des Körpers von sich ab, vermag sich zu vermehren und auszubreiten und schließlich seinen Wirt durch Giftbildung oder sonst auf eine Weise zu töten. Das wird besonders leicht an Orten sein können, die für eine Entfaltung bakterizider Wirkungen nicht günstig sind, z. B. im subkutanen Gewebe. Ein Milzbrandbacillus, dem die Lysinbildung fehlt, oder bei dem sie unwirksam gemacht wird,

1) Zieglers Beiträge. Bd. XII. 1893. p. 333. Gegen die Bezeichnung Lysine erhob sich gelegentlich eines diesen Gegenstand behandelnden Vortrages in der biologischen Sektion des Vereins „Lotos“ in Prag (10. März 1904) Widerspruch, indem darauf hingewiesen wurde, daß das Wort Lysin zur Zeit eine andere Bedeutung erlangt habe. Obwohl dies ganz richtig und überdies zuzugeben ist, daß das Wort „Lysin im Kruseschen Sinne nicht sehr glücklich gewählt ist, soll es dennoch der historischen Priorität halber im folgenden beibehalten werden. Einer Verwechslung mit direkt „lösenden“ Immunstoffen ist größenteils dadurch vorgebeugt, daß man kaum je von Lysin, sondern immer von Hämolytischen, Cyto-, Bakteriolytischen u. dergl. spricht.

fällt der normalen Körperbakterizidie langsam zum Opfer, so wie ein nicht pathogener *Bacillus anthracoides* oder ein *Heubacillus*.

Enthielte nun das Oedem milzbrandiger Kaninchen das fragliche Lysin, so würde Vorbehandlung eines Kaninchens mit solchen Oedemmassen ein Antilysin erzeugen. Im Körper eines Tieres, das solches von Natur aus oder durch Immunisierung enthält, oder dem es auf dem Wege passiver Immunisierung zugeführt wird, vermag der Milzbrandbacillus sich nicht zu vermehren und fällt daher den langsam wirkenden bakteriziden Vorrichtungen, genau so wie ein unschädlicher *Heubacillus*, zum Opfer.

Es erfordert natürlich viel Zeit und Arbeit, diese Anschauung allseits zu begründen, was deshalb dem nächsten Abschnitte dieser „Untersuchungen“ vorbehalten bleibt. Vorläufig seien nur einige Versuche mitgeteilt, welche die Aufhebung der bakteriziden Wirkung von Kaninchenzellen und die davor schützende Wirkung des Immunserums kennzeichnen. Selbstverständlich hat die Untersuchung des Kaninchen-serums hier keinen Wert, wohl aber die von Zellen, nach vorangegangener Infektion. Unter solchen Bedingungen lassen sich Lysinwirkungen von Oedem, Peritonealexsudat, Kochsalzextrakten der Organe milzbrandiger Organe nachweisen. In letzteren fällt nur eine einwandfreie Kontrolle schwer, da auch Extrakte normaler Organe die bakterizide Wirkung nach einer, demnächst zu veröffentlichenden Beobachtung herabsetzen.

Tabelle XV.

Ein Kaninchen erhält 1 ccm abgeschwächten Milzbrand (Vaccin II) intravenös und ebensoviel mit Aleuronat zusammen intrapleurale und wird nach 20 Stunden verblutet. Das Exsudat wird als solches verwendet. Als Lysin dienen fast keimfrei gemachte Leber-, Milz-, Knochenmarksextrakte mit physiologischer Kochsalzlösung, sowie Oedem eines milzbrandigen Kaninchens. Zur Kontrolle werden in gleicher Weise hergestellte Extrakte eines erstickten normalen Kaninchen verwendet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1	1 ccm Vollexsudat	2168	7
2	1 " " + 0,2 ccm Oedem	2416	3768
3	1 " " + 0,2 " Milzlysin	2088	6880
4	1 " " + 0,2 " normaler Milzextrakt	1840	328
5	1 " " + 0,2 " Leberlysin	1920	1824
6	1 " " + 0,2 " normaler Leberextrakt	2648	416
7	1 " " + 0,2 " Knochenmarklysin	2320	816
8	1 " " + 0,2 " normaler Knochenmarkextrakt	2416	52

Tabelle XVI.

Wie der Versuch in Tab. XV angestellt. Als Lysine dienen Peritonealexsudat sowie Leber- und Milzextrakte eines milzbrandigen, als Kontrollen Extrakte von Leber und Milz eines normalen Meerschweinchens. Als Antilysin wird Immunserum von Kaninchen 71 verwendet.

		Sofort	Nach 4 Stdn.
1	1 ccm Vollexsudat	912	69
2	1 " " + 0,2 ccm Peritonealexsudat	952	über 10 000
3	1 " " + 0,2 " " + 0,05 ccm Ser. 71	—	976
4	1 " " + 0,2 " Milzlysin	1576	5900
5	1 " " + 0,2 " " + 0,05 ccm Serum 71	—	2640
6	1 " " + 0,2 " normaler Milzextrakt	—	192
7	1 " " + 0,2 " Leberlysin	1096	1024
8	1 " " + 0,2 " " + 0,05 ccm Serum 71	—	93
9	1 " " + 0,2 " normaler Leberextrakt	—	42

Man wird solchen Versuchen eine gewisse Beweiskraft nicht absprechen können. Dennoch ist, abgesehen davon, daß den gelungenen auch negative Versuche gegenüberstehen, die oben ausgedrückte Vorsicht aus zwei Gründen gerechtfertigt. Einmal sind noch verhältnismäßig

große Mengen „Lysin“ zur Aufhebung des bakteriziden Reagenzglas-effektes nötig, dann gab aber auch das Kaninchenödem, das immunisatorisch so ausgezeichnet wirkte, meist schlechte lytische Effekte. Dazu kommt, daß Reagenzglasversuche allein nicht entscheiden können, Tierversuche aber, deren Deutung einwandfrei sein soll, mit großer Vorsicht und in großem Umfange angestellt werden müssen.

Nachdruck verboten.

Die Tuberkulinreaktion.

[Ein Beitrag zur Feststellung ihres Wesens als Gattungsreaktion.]

Von Regimentsarzt Dr. Feistmantel,

Leiter der Untersuchungsstation am k. u. k. Garnisonspital Nr. 16 in Budapest.

(Schluß.)

Im Nachstehenden stelle ich der Mehrzahl nach in Tabellenform meine Resultate zusammen. Sie beziehen sich:

- 1) auf toxische Wirkung von höheren Glycerindosen auf Meerschweinchen:
 - a) unverändert;
 - b) in 50-proz. wässriger Lösung, in welcher Konzentration, das Glycerin im Rohtuberkulin enthalten ist;
- 2) Wirkungen von Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration auf tuberkulöse Meerschweinchen;
- 3) Wirkung von größeren Mengen sterilen Wassers auf tuberkulöse Meerschweinchen;
- 4) Höhe der für gesunde Tiere wirksamen Tuberkulin- und Farcingift Dosen;
- 5) Reaktion tuberkulöser Meerschweinchen auf
 - a) Tuberkulin,
 - b) Farcingift;
- 6) Wirkung größerer Dosen sterilen Wassers auf mit Streptothrix farcinica infizierte Tiere;
- 7) Reaktion von mit Streptothrix farcinica infizierten Meerschweinchen auf
 - a) Farcingift,
 - b) Tuberkulin.

Ad. 1. A. Toxische Wirkung höherer Glycerindosen auf gesunde Meerschweinchen.

a) Reines Glycerin:

Tier	Glycerindosis in ccm pro 100 g Körpergewicht	Wirkung
1	0,4 ccm	lebt noch nach 1 Woche.
2	0,7 „	stirbt nach 3 Tagen nach der Glycerininjektion. Oedem an der Injektionsstelle. Injektion der Mesenterialgefäße und des Peritoneums.
3	1 „	stirbt 1 Stunde nach der Glycerininjektion unter klonischnen Krämpfen. Oedem an der Injektionsstelle. In der Bauchhöhle blutig tingiertes Exsudat (Hämolyse), starke Injektion der Mesenterialgefäße.

b) 50-proz. wässrige Glycerinlösung:

Tier	Menge der injizierten Glycerinlösung pro 100 g Körpergewicht	Menge des injizierten Glycerins pro 100 g Körpergewichts	Wirkung
4	0,2 ccm	0,1 ccm	lebt noch am 4. Tage nach der Injektion weiter.
5	1 "	0,5 "	do. do.
6	2 "	1 "	$\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion klonische Krämpfe. $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion Tod. Obduktionsbefund wie bei Tier 3 der vorhergehenden Reihe.

B. Auf tuberkulöse Meerschweinchen: Bei 300 g schweren tuberkulösen Meerschweinchen der 2. Krankheitswoche vermögen auch Dosen von 0,05 ccm reinen Glycerins (entspräche dem Glyceringehalt von 0,1 ccm Rohtuberkulin) keine pyrogene Wirkung hervorzurufen.

Schlußfolgerung: Die stark toxische Wirkung höherer Glycerindosen kommt bei den für die Hervorrufung der Fieberreaktion in tuberkulösen Organismen nötigen Mengen nicht zur Geltung.

Ad 2. Wirkung von Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration auf tuberkulöse Meerschweinchen (2. Krankheitswoche).

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Kochsalzmenge in der Injektionsflüssigkeit	Verhältnis von Kochsalzmenge zum Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum während der 2 der Injektion vorausgehenden Tagen. Daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Kochsalzinjektion	Bemerkung
7	4 ccm	0,8 g	1:825	$39,1-39,6^{\circ}$ $39,35^{\circ}$	$40,3^{\circ}$ 3 Stdn. p. inject. innerhalb der folgenden 8 Stdn. Abfall	4 Tage nach der Ks.-Injektion getötet. An der Infektionsstelle Ulcus, Tuberkelknötchen an sämtlichen Unterleibsorganen
8	4 "	0,3 "	1:2000	$38,9-39,2^{\circ}$ $39,05^{\circ}$	$39,9^{\circ}$ 3 Stdn. p. inject. innerhalb der folgenden 7 Stdn. Abfall	4 Tage nach der Ks.-Injektion getötet. An der Injektionsstelle kleinerbsengroßes Infiltrat. Spärliche Tuberkelknötchen an den Baueingeweiden
9	4 "	0,05 "	1:11 000	$38,8-39,5^{\circ}$ $39,15^{\circ}$	$39,1$ 3 Stdn. p. inject.	4 Tage nach der Ks.-Injektion getötet. An der Infektionsstelle kleines Infiltrat. Hochgradige Tbc. der Baueingeweide

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Kochsalzmenge in der Injektionsflüssigkeit	Verhältnis von Kochsalzmenge zum Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum während der 2 der Injektion vorausgehenden Tagen. Daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Kochsalzinjektion	Bemerkung
10	4 ccm	0,01 g	1 : 45 000	38,4—38,7° 38,55°	39,1 4 Stdn. p. inject.	4 Tage nach der Ks.-Injektion getötet. An der Infektionsstelle erbsengroßer käsiger Herd. Einzelne Knötchen an den Baucheingeweiden

Schlußfolgerung: Auch Lösungen, welche mehr als das Tausendfache der Kochsalzmenge enthalten, welche in den für diagnostische Injektionen gebräuchlichen Tuberkulindosen enthalten ist, können keine der Tuberkulinreaktion auch nur ähnliche Reaktion hervorrufen.

Ad. 3. Wirkung von Injektionen sterilen Wassers auf tuberkulöse Meerschweinchen.

Die größte injizierte Flüssigkeitsmenge betrug 4 ccm sterilen Wassers. Die größte nach den Wasserinjektionen beobachtete Erhebung über das Temperaturmittel betrug 0,5°; also auch größere Flüssigkeitsmengen sind bei für die Tuberkulinreaktion sehr gut geeigneten tuberkulösen Tieren nicht im stande, irgend eine der Tuberkulinreaktion ähnliche Erscheinung hervorzurufen.

Ad 4. Höhe der für gesunde Meerschweinchen eben wirksamen Dosen meines Tuberkulins und meines Farcingiftes,

a) des Tuberkulins:

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Menge des injizierten Tuberkulins	Verhältnis der Tuberkulinmenge z. Körpergewicht	Temperaturminimum u. maximum zu verschiedenen Tageszeiten, 2 Tage vor der Tuberkulinisierung, daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Tuberkulinisierung	Anmerkung
11	1 ccm	0,3 ccm	1 : 1200	38,8—39° 38,9°	40,8° 3 Stdn. nach der Tuberkulininjektion. 5 Stdn. nachher abgefallen zur Norm	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. Alle inneren Organe, sowie die serösen Häute vollkommen frei von irgend einer tuberkuloseähnlichen Erkrankung
12	1 „	0,15 „	1 : 2100	38,6—38,8° 38,7°	40,0° 3 Stdn. nach der Tuberkulinisierung. 5 Stdn. nachher abgefallen	dito

b) des Farcingiftes (nicht unter 0,1 ccm, da Farcinagift nach anderen Erfahrungen schwächer, als mein Tuberkulin, und dieses nur in Dosen von mehr als 0,1 ccm, eine positive Reaktion gab):

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Menge des injizierten Tuberkulins	Verhältnis der Tuberkulinmenge z. Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum zu verschiedenen Tageszeiten, 2 Tage vor der Tuberkulinisierung, daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Tuberkulinisierung	Anmerkung
13	1 ccm	0,1 ccm	1 : 4000	$\frac{38,8-39,2}{39}$ °	40,1° 2 Stdn. nach der Injektion. 4 Stdn. nachher Abfall	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. Alle inneren Organe, sowiedieserösen Häute vollkommen frei von irgend einer tuberkuloseähnlichen Erkrankung
14	1 „	0,3 „	1 : 1600	$\frac{38,5-39,2}{38,85}$ °	40° 2 Stdn. nach der Injektion. 4 Stdn. nachher Abfall	dito
15	1 „	0,5 „	1 : 800	$\frac{38,6-39}{38,8}$ °	40° 2 $\frac{1}{2}$ Stdn. nach der Injektion. 4 Stdn. nachher Abfall z. Norm	dito

Zusammenfassung: Gesunde Meerschweinchen gaben auf 0,15 ccm meines Tuberkulins und auf 0,5 ccm meines Farcingiftes positive Reaktion.

Auch 0,3 ccm meines Farcingiftes gaben bereits eine unverkennbare Reaktion.

Ad 5. Reaktion tuberkulöser Meerschweinchen (2. Woche) auf niedrige Dosen.

a) Von Tuberkulin.

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Tuberkulinmenge in der Injektionsflüssigkeit in g	Verhältnis der Tuberkulinmenge zum Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum während d. 2 Tuberkulinisierungsvorgangstagen zu verschiedenen Tageszeiten, daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Tuberkulinisierung	Anmerkung
16	1 ccm	0,05	1 : 10 000	$\frac{39,1-39,3}{39,2}$ °	40,1° 2 Stdn. nach d. Tuberkulinisierung, in den folgenden 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. An der Injektionsstelle kl. Infiltrat. Zahlreiche Tuberkelknötchen in allen Baucheingeweiden. Brustorgane frei

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Tuberkulinmenge in der Injektionsflüssigkeit in g	Verhältnis der Tuberkulinmenge zum Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum während d. 2 d. Tuberkulinisierung vor- aufgehenden Tage zu verschied. Tageszeiten, daraus das Mittel	Temperaturmaximum nach der Tuberkulinisierung	Anmerkung
17	1 "	0,02	1:30 000	38,9—39,1° 39,0°	40,4° 3Stdn. nach d. Tuberkulinisierung, in den folgenden 5 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. An der Infektionsstelle kl. Infiltrat. Spärliche Tuberkelknötchen an den Unterleibsorganen. Brustorgane frei
18	1 "	0,008	1:68 500	38,4—38,6° 38,5°	39,4° 3Stdn. nach d. Tuberkulinisierung, in den folgenden 5 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. An der Infektionsstelle kl. Infiltrat. Tuberkulose aller Baueingeweide, besonders stark befallen: Mesenterium, Leber, Milz, Nieren
19	1 "	0,004	1:114 000	38,6—33,8° 38,7°	40,0° 4Stdn. nach d. Tuberkulinisierung, in den folgenden 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Tuberkulinisierung. An der Infektionsstelle starkes Infiltrat. An der Leber ganz vereinzelte Knötchen, sonst alle anderen Organe frei

Zusammenfassung: Tuberkulöse Meerschweinchen (2. Woche) reagieren auch auf Milligramme (4) meines Tuberkulins.

Einen lehrreichen Beleg für den hemmenden Einfluß, welchen ein vorgeschrittenes Stadium der Erkrankung auf das Zustandekommen einer stärkeren Tuberkulinreaktion ausübt, bilden die Resultate bei den Tieren 16 und 18.

Das Tier 16 antwortet auf 0,05 g Tuberkulins mit einer unvollkommenen, das Tier 17 auf eine niedrigere Tuberkulindose (0,02 g) mit einer starken, ausgesprochen positiven Reaktion. Als Grund hierfür ergab die Obduktion: bei Tier 16 Tuberkulose in allen Baueingeweiden, bei Tier 17 bloß spärliche Tuberkelknötchen.

Ein analoges Verhalten bei den Tieren 18 und 19; bei 18 unvollkommene Reaktion auf 0,008 g wegen fortgeschrittener Tuberkulose; bei 19 ausgesprochen positive Reaktion auf 0,004 g, da die Tuberkulose noch nicht weit vorgeschritten war.

b) Von Farcingift (bei tuberkulösen Tieren in der 2. Woche).

Tier	Injizierte Flüssigkeitsmenge	Darin Farcinica-gift g	Verhältnis der injizierten Giftmenge z. Körpergewicht	Temperaturmittel in den 2 Tagen vor der Giftinjektion	Temperaturmaximum nach der Injektion	Anmerkung
20	1 ccm	0,01	1:40,000	39,3°	40,75° 3 Stdn. nach d. Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Giftinjektion. Spärliche Tuberkelknötchen an den Intestinis
21	1 „	0,02	1:20 000	39,2°	40,3° 3 Stdn. nach d. Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Giftinjektion. Vorgeschrittene Tuberkulose in den Abdominalorganen
22	1 „	0,3	1:1300	39,5°	41,5° 2 Stdn. nach d. Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Giftinjektion. Tuberkelknötchen in den Abdominalorganen.
23	1 „	0,8	1:500	39,5°	41,7° 3 Stdn. nach d. Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall	Tötung 1 Tag nach der Giftinjektion. Einzelne Tuberkelknötchen an den Abdominalorganen.
24	1 „	1,4	1:285	39,14°	41,65° 3 Stdn. nach d. Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall	dito

Zusammenfassung: Tuberkulöse Meerschweinchen (der 2. Woche) geben auf 1 cg meines Farcingiftes eine ausgesprochene Tuberkulinreaktion. Tier 21 gab wegen vorgeschrittener Tuberkulose bloß eine unvollkommene Reaktion.

Ad 6. Wirkung größerer Dosen sterilen Wassers auf mit Streptothrix farcinica infizierte Tiere.

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Verhältnis der Menge der Injektionsflüssigkeit zum Körpergewicht	Temperaturminimum und -maximum an den 2 der Injektion voraufgehenden Tagen. Daraus das Mittel	Temperaturmaximum in den nächsten Stunden nach der Injektion
25	2 ccm	1:150	38,5—38,9° 38,7°	39,4° 4 Stdn. nach der Injektion
26	2 „	1:175	38,5—39° 38,75°	39,1° 2 Stdn. nach der Injektion

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Verhältnis der Menge der Injektionsflüssigkeit zum Körpergewicht	Temperaturminimum und -maximum an den 2 der Injektion voraufgehenden Tagen. Daraus das Mittel	Temperaturmaximum in den nächsten Stunden nach der Injektion
27	2 ccm	1:200	$\frac{38,3-39,0}{38,7}$	39,0° 3 Stdn. nach der Injektion
28	1 „	1:300	$\frac{38,9-39,1}{39}$	39,6° 3 Stdn. nach der Injektion

Zusammenfassung: Auf die Injektion von sterilem Wasser, in Mengen, welche doppelt so groß sind, wie die für Tuberkulininjektionen verwendeten Flüssigkeitsmengen, gehen die Temperaturerhöhungen bei mit *Streptothrix farcinica* injizierten Meerschweinchen nicht über die ganz normalerweise vorkommenden Temperaturschwankungen bei gesunden Meerschweinchen, nämlich nicht über 0,7° hinaus. Die Injektion größerer Mengen von sterilem Wasser ist demnach nicht im stande, bei mit *Streptothrix farcinica* infizierten Meerschweinchen eine der Tuberkelreaktion ähnliche Reaktion hervorzurufen.

Ad. 7. Reaktion von mit *Streptothrix farcinica* infizierten Meerschweinchen

auf: a) Farcingift.

Dosen von 0,5 ccm abwärts, da auf 0,5 ccm Farcingift schon gesunde Tiere reagieren.

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Farcingift	Verhältnis der Farcingiftmenge zum Körpergewicht	Temperaturminimum u. -maximum zu verschied. Tageszeiten an den 2 der Injektion vorangehenden Tage; daraus Mittel	Temperaturmaximum nach der Farcinica-injektion	Anmerkung
29	1 ccm	0,2 ccm	1:1750	$\frac{38,5-39,1}{38,8}$	40° 3 Stdn. nach der Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall zur Norm	11 Tage nach der Injektion spontan eingegangen. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion
30	1 „	0,03 „	1:10 600	$\frac{38,9-39,1}{39}$	40° 3½ Std. nach der Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall zur Norm	12 Tage nach der Injektion getötet. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion
31	1 „	0,01 „	1:30 000	$\frac{39-39,4}{39,2}$	40,4° 3 Stdn. nach der Injektion, innerhalb der nächsten 4 Stdn. Abfall zur Norm	12 Tage nach der Injektion spontan eingegangen. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Farcin-gift	Verhältnis der Farcin-giftmenge zum Körpergewicht	Temperatur-minimum u. -maximum zu verschied. Tageszeiten an den 2 der Injektion vorangehenden Tage; daraus Mittel	Temperatur-maximum nach der Farcinica-injektion	Anmerkung
32	1 ccm	0,005 ccm	1 : 56 000	$\frac{38,5-38,9^{\circ}}{38,7^{\circ}}$	$38,9^{\circ}$ 3 Stdn. nach der Injektion	10 Tage nach der Injektion spontan eingegangen. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion
33	1 "	0,002 "	1 : 125 000	$\frac{38,8-39,4^{\circ}}{39,1^{\circ}}$	$38,9^{\circ}$ 2 Stdn. nach der Injektion	5 Tage nach der Injektion spontan eingegangen. Peritonitis

Zusammenfassung: Die kleinste bei mit Streptothrix farcinica infizierten Meerschweinchen noch wirksame Dosis meines Farcinicagiftes war 0,01 g (1 cg).

Auf: b) Tuberkulin.

Tier	Menge der Injektionsflüssigkeit	Tuberkulin-menge	Verhältnis der Tuberkulin-menge z. Körpergewicht	Temperatur-minimum u. -maximum zu d. verschied. Tageszeiten an den 2 der Injektion vorausgehenden Tag; daraus das Mittel	Temperatur-maximum nach der Tuberkulinisierung	Anmerkung
34	1 ccm	0,004 ccm	1 : 50 000	$\frac{38,8-39,5^{\circ}}{39,15^{\circ}}$	$40,3^{\circ}$ 3 Stdn. nach der Tuberkulinisierung, innerhalb d. nächst. 4 St. Abfall	Tod spontan, 10 Tage nach der Injektion. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion
35	1 "	0,005 "	1 : 63 000	$\frac{38,9-39,1^{\circ}}{39^{\circ}}$	$40,6^{\circ}$ 3 Stdn. nach der Tuberkulinisierung, innerhalb d. nächst. 5 St. Abfall	2 Wochen nach der Injektion spontaner Tod. Obduktionsbefund typische Farcinicainfektion
36	1 "	0,05 "	1 : 7000	$\frac{38,3-38,8^{\circ}}{38,55^{\circ}}$	$40,8^{\circ}$ 3 Stdn. nach der Tuberkulinisierung, innerhalb d. nächst. 5 St. Abfall	dito
37	1 "	0,1 "	1 : 2500	$\frac{38,8-39,4^{\circ}}{39,1^{\circ}}$	$40,3^{\circ}$ 2 Stdn. nach der Tuberkulinisierung, innerhalb d. nächst. 5 St. Abfall	Tod eine Woche nach der Injektion. Starke Infektion des Peritoneums

Zusammenfassung: Auch Milligramme meines Tuberkulins riefen bei mit *Streptothrix farcinica* infizierten Meerschweinchen eine Tuberkulinreaktion hervor.

Schlußsätze:

1) Aus der den Tuberkelpilzen morphologisch verwandten *Streptothrix farcinica* kann ein Gift dargestellt werden, welches gleiche pyrogene Wirkungen hat wie das Tuberkulin. *vetus*.

In meinen Versuchen erzeugten eine typische Tuberkulinreaktion:

	Wirksame Dosen meines Tuberkulins Farcingiftes in Milligramm	
Bei tuberkulösen Meerschweinchen	4	10
Bei mit <i>Streptothrix farcinica</i> infizierten Meerschweinchen	4	10

Das von mir verwendete Farcingift war schwächer als mein Tuberkulin, erzeugte aber gerade so wie dieses sowohl bei tuberkulösen, wie bei mit *Streptothrix farcinica* infizierten Meerschweinchen eine typische Tuberkulinreaktion.

Ich muß daher die Tuberkulinreaktion als spezifische Gattungsreaktion im Sinne Zupniks, nicht als spezifische Artreaktion ansehen.

2) Meine Versuchsergebnisse sind ein weiterer Beweis der nahen Verwandtschaft der *Streptothrix farcinica* mit den Tuberkelpilzen.

Literatur.

- 1) Adler, R., Prager med. Wochenschr. Bd. XXVIII. 1903. — 2) Azoulay, La médecin moderne. 1893. No. 41. — 3) Babes und Kalindero, Deutsche med. Wochenschr. 1891. — 4) Babes und Proca, Zeitschr. f. Hygiene. 1896. — 5) Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1891. No. 49. — 6) Chauffard, Bull. méd. 1892. — 7) Daniellson, Monatshefte f. praktische Derm. 1891. 3—4. — 8) Doremberg, Compt. rend. d. la Soc. d. Biol. — 9) Detre-Deutsch, Budapesti orvosi ujság. 4. Februar 1904. — 10) Eber, Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XXI. — 11) Feistmantel, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 10. — 12) Franz, Wien. med. Wochenschr. 1902. Nr. 36, 37, 38. — 13) Friedmann, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 50. — 14) Frühast, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 36—38. — 15) Gamalaia, Arch. de méd. experim. 1891. — 16) Goetsch, Deutsche med. Wochenschr. 1901. — 17) Hueppe, Berl. klin. Wochenschr. 1891. — 18) Hutinel, Lemercredi méd. 1895. — 19) Hutyra, Veterinarium. 1898. — 20) Janowsky, Wien. med. Wochenschr. 1893. — 21) Kalindero, Revue de méd. 1891. — 22) Kaposi, Wien. klin. Rundschau. 1891. — 23) Kartulis, Deutsche med. Wochenschr. 1891. — 24) Kasperek, Wien. med. Wochenschr. 1897. — 25) Klemperer, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XX. — 26) Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1890, 1891, 1897 und 1901. — 27) Krause, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXII. 1899 und Bd. XXXIII. 1900. — 28) Krompacher, Annales Pasteur. 1900. — 29) Ledoux-Lebard, Arch. de méd. experim. T. X. — 30) Lenoir, Progrès méd. 1893. — 31) Matthes, Deutsches Arch. f. klin. Med. 1894. Centralbl. f. innere Med. 1895. — 32) Naunyn, Deutsche med. Wochenschr. 1891. — 33) Nocard, Baumgartens Jahresbericht (Ref.). 1892. — 34) Ostertag, Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde. 1898. — 35) Petruschky, Deutsche med. Wochenschr. 1900. — 36) Vorträge zur Tuberkulosebekämpfung. Leipzig (Leineweber) 1900. — 37) Petruschky und Weicker, Ueber Heilstätten- und Tuberkulinbehandlung in gegenseitiger Ergänzung. Leipzig (Leineweber) 1901. — 38) Preisich und Heim, Centralbl. f. Bakt.

Bd. XXXI. No. 14. — 39) **Ramond-Ravaut**, Compt. rend. d. l. Soc. d. Biol. 1898. — 40) **Rembold**, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVI. 1897. — 41) **Roemer**, Wien. klin. Wochenschr. 1891. No. 48. — 42) **Salter**, Lancet. 1898. — 43) **Sée**, Bull. de l'Académie de méd. 1893. — 44) **Schjerning**, Die Tuberkulose in der Armee. 1899. — 45) **Schwartz**, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 29. — 46) **Spengler**, Therapeutische und diagnostische Resultate der Tuberkulinbehandlung bei 41 Lungenkranken. 1892. — 47) Derselbe, Berl. klin. Wochenschr. 1898. p. 477. — 48) Derselbe, Ueber Tuberkulinbehandlung. 1897. — 49) Derselbe, Zur Diagnose geschlossener Lungentuberkulose. 1900. **Davos** (Ehrlich). — 50) **Strauss**, Le mercredi méd. T. XXXII. 1893. — 51) **Turban**, Beiträge zur Kenntnis der Lungentuberkulose. 1899. — 52) **Vogel**, Münch. med. Wochenschr. 1891. — 53) **Zupnik**, D. Archiv f. klin. Med. Bd. LXXVI. 1903. Heft 1—3.
Budapest im November 1903.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Pathogenität der tuberkelbacillenähnlichen säurefesten Stäbchen.

[Aus dem kgl. ung. bakteriologischen Institute in Budapest.]

Von Dozent Dr. **Aladár Aujeszký**, Budapest.

Im folgenden möchte ich über jene Erfahrungen referieren, welche ich bei meinen, mit verschiedenen säurefesten Mikroben angestellten Tierexperimenten über die pathogene Wirkung der tuberkelbacillenähnlichen Pilze auf den Organismus unserer gewöhnlichen Versuchstiere machte. In den Bereich der Untersuchungen zog ich folgende 12 Mikroorganismen der Tuberkelpilzgruppe:

- 1) den Butterpilz **Rabinowitschs**,
- 2) den Timotheepilz **Möllers**,
- 3) den Mistbacillus **Möllers**,
- 4) den Graspilz II **Möllers**,
- 5) den Pseudoperlsuchtbacillus **Möllers**,
- 6) den Milchbacillus **Möllers**,
- 7) den Smegmabacillus **Möllers**,
- 8) den Butterpilz I **Korns**,
- 9) den Butterpilz II **Korns**,
- 10) den säurefesten Bacillus **Marpmanns** aus Harn,
- 11) den säurefesten Bacillus **Karlińskis** und
- 12) den säurefesten Bacillus **Preiszs**.

Die Versuche wurden teils mit der Reinkultur der obengenannten Mikroorganismen angestellt, teils wurde mit denselben gleichzeitig auch sterilisierte Butter, resp. sterilisiertes Tafelöl (4—5 ccm) eingespritzt.

Wie bekannt, steigert die Miteinspritzung der sterilisierten Butter, resp. des Oeles die pathogene Wirkung dieser Pilze; deshalb hielt ich es für interessant, zu den Versuchen nicht nur Reinkulturen, sondern auch mit sterilisierter Butter oder sterilisiertem Oel gemischte Bacillenaufschwemmungen zu verwenden.

Gegenüber der Behauptung anderer Autoren machten **Hormann** und **Morgenroth**¹⁾ aufmerksam, daß die Injektion der sterilen Butter in die Bauchhöhle der Versuchstiere gar nicht irrelevant sei, sondern daß dieselbe auch allein, ohne Bakterien am Peritoneum Reiz-

1) **Hormann** und **Morgenroth**, Weitere Mitteilungen über Tuberkelbacillenbefunde in Butter und Käse. (Hyg. Rundsch. Bd. VIII. 1898. No. 22.)

erscheinungen hervorruft. Bei meinen diesbezüglichen Untersuchungen konnte ich die Angaben von *Hormann* und *Morgenroth* auch bestätigen. 2 Tauben, 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen spritzte ich in die Bauchhöhle je 5 ccm sterilisierte Butter; ebenso injizierte ich je zwei anderen Tieren je 5 ccm sterilisiertes Tafelöl. Von den ersteren Tieren ging ein Meerschweinchen (ein junges, schwaches Tier) nach 10 Tagen, von den letzteren eine Taube nach 5 Tagen zu Grunde. Die übrigen blieben am Leben. In der Bauchhöhle dieser zwei eingegangenen Versuchstiere fand ich Hyperämie, blutigseröses Exsudat, um die nicht resorbierten Butter- resp. Oelteilen ein die Bauchorgane zusammenklebendes fibrinöses Exsudat — also ein Bild, welches die meisten säurefesten Bakterien hervorgerufen, wenn man sie mit Butter oder Oel gemengt in die Bauchhöhle spritzt, jedoch mit dem Unterschiede, daß in dem gegenwärtigen Falle von Bakterien oder von Pseudotuberkeln keine Spur war. Sterile Butter oder steriles Oel reizt also das Bauchfell (wahrscheinlich infolge der Fettsäure). Diese reizende Wirkung ist meistens nur von vorübergehender Natur und verschwindet alsbald, wenn der injizierte Stoff resorbiert ist. Doch manchmal — besonders bei schwächeren, jüngeren Tieren, welche weniger resistent sind — können auf diese Weise auch beschwerliche Komplikationen entstehen,

Spritzt man mit der sterilen Butter resp. sterilem Oel auch säurefeste Bakterien ein, werden letztere von Butter- und Oelteilen umhüllt und von der bakteriziden Wirkung der animalischen Säfte geschützt — und daher wird denselben zum Weiterleben, zur Vermehrung Gelegenheit gegeben, wodurch sie auf die Gewebe eine intensivere Wirkung ausüben können, hauptsächlich an jenen Partien der Bauchhöhle, wo die peristaltischen Bewegungen geringer sind. Andererseits ist nicht zu übersehen, daß das Bauchfell durch die Butter oder durch irgend einen anderen Fettstoff — wahrscheinlich infolge der Fettsäuren — gereizt und so das Entstehen der pathologischen Veränderungen beschleunigt wird. Wie durch die eingehenden Untersuchungen *Mayers*¹⁾ festgestellt wurde, reagiert das Peritoneum auf den Reiz, welchen die Butter (Oel) und die durch die Fettpartien umhüllten Bakterien verursachen, mit einer fibrinös-plastischen Entzündung; dann kommt es zu einer durch fibrinoiden Zerfall zu Grunde gehenden Epitheloidzellenanhäufung um die Bakterien, und die Vermehrung der Mikroorganismen, sowie die proliferative Reaktion der Gewebelemente führt endlich zur Bildung von kleineren oder größeren Knötchen (Pseudotuberkeln). Gelangen in die Bauchhöhle nur wenig Bakterien und zwar allein, ohne Butter oder Oel, so ist in dem Kampfe meistens der Organismus der Sieger und die pathologischen Veränderungen entwickeln sich nur in geringerem Grade oder seien sie auch intensiver, endigt der Prozeß doch meistens mit Genesung.

Nach diesen Vorbemerkungen sollen die Beobachtungen, welche ich bezüglich der Pathogenität der untersuchten 12 tuberkelbacillenähnlichen Mikroorganismen machte, in folgendem mitgeteilt werden.

Der Butterpilz *Rabinowitschs*.

*Frau Kempner-Rabinowitsch*²⁾ gibt über die Pathogenität ihres Butterpilzes folgendes an: Dieser *Bacillus* ist für Meerschweinchen

1) *Mayer*, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien aus der Tuberkulosegruppe. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXVI. 1899.)

2) *Rabinowitsch, Lydia*, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskr. Bd. XXVI. p. 105.)

pathogen, Kaninchen und weiße Mäuse zeigen sich dagegen refraktär. Ein Teil der erkrankten Meerschweinchen geht zu Grunde, der größere Teil erholt sich wieder. Schwere Veränderungen werden hervorgerufen, wenn man die Meerschweinchen mit tuberkelähnliche Bacillen enthaltender Butter impft. Die Tiere gehen meistens nach 3—4 Wochen ein und der Sektionsbefund ist gewöhnlich dieser: „Leicht aufgetriebenes Abdomen, Peritonitis von leichter Fibrinausscheidung bis zu festen bindegewebigen Verwachsungen der Bauchorgane. Das ganze Peritoneum und Mesenterium ist von Knötchen durchsetzt. Unter der Serosa der Darmwände schimmern zahlreiche kleine graue Knötchen hervor. Die Mesenterialdrüsen sind bedeutend geschwollen, zum Teil enthalten sie eiterig-käsigen Inhalt. Die Leber ist mit Auflagerungen und Knötchen bedeckt, die sich zuweilen ganz wie Fremdkörper aus dem gesunden Lebergewebe herausheben lassen, oder mehr oder weniger ins Leberparenchym hineinwuchern. Die Milz ist in leichten Fällen nur vergrößert, bisweilen aber im Gegensatz zur Leber von Knötchen dicht durchsetzt. Die Nieren zeigen gleichfalls die gelblichen Auflagerungen. Die Lungen zeigen mitunter zahlreiche, durchsichtige, kleine Knötchen, dieselben stellen aber nur oberflächliche Einlagerungen dar, ohne ins Lungengewebe selbst einzudringen; die Sternaldrüsen sind mitunter geschwollen, zeigen aber keine Veränderung.“ Die tuberkelähnlichen Stäbchen sind im Blute nur spärlich vorhanden. Dagegen findet man sie in den Pseudotuberkeln, in den Drüsen und in anderen befallenen Organen in großer Zahl. Bezüglich des histologischen Verhaltens der Knötchen hebt Rabinowitsch hervor, daß der pathologische Prozeß einen mehr exsudativen als proliferativen Charakter besitzt, und daß diese Pseudotuberkulose dem Rotz näher steht, als der echten Tuberkulose. Wir vermissen in unseren Herden die Langhansschen Riesenzellen, die Epitheloidzellnester und typische tuberkulöse Verkäsungen.“

Meine Tierexperimente¹⁾ führten zu folgenden Ergebnissen: Meerschweinchen erwiesen sich dem Butterbacillus gegenüber als ziemlich empfänglich, und zwar nicht nur, wenn ich denselben mit Butter gemengt in die Bauchhöhle injizierte, sondern auch dann, wenn ich zur Injektion die Aufschwemmung einer (4-tägigen) Agarkultur verwendete. Jene Meerschweinchen, denen der Butterbacillus ohne Butter injiziert wurde, gingen einige Tage später zu Grunde als jene, die zugleich auch Butter erhielten.

Daß von meinen Tieren kein einziges am Leben blieb und sämtliche etwas früher (am Ende der zweiten Woche) abstarben als die Meerschweinchen von Rabinowitsch, vermeine ich dem zuzuschreiben, daß ich sie mit größeren Dosen infizierte. Die in den Leichen vorgefundenen pathologischen Veränderungen entsprechen vollkommen den oben erwähnten und daher erscheint eine detaillierte Beschreibung als überflüssig.

Nach Rabinowitsch ist ihr Butterbacillus für weißen Mäuse nicht pathogen. Dies konnte ich auch feststellen, jedoch gelang es mir, graue Mäuse zu infizieren, wenn ich den Tieren größere Quantitäten (0,1—0,2 ccm der Aufschwemmung) in die Bauchhöhle injizierte. Die Tiere verendeten nach 2—5 Tagen.

Ebenso wie die grauen Mäuse, konnte ich 2 Frösche intraperitoneal infizieren. Diese Tiere verendeten nach 8—9 Tagen und in den

1) Angestellt mit einer Krälschen Kultur.

Organen der Bauchhöhle konnte man Pseudotuberkel wahrnehmen, welche viele Butterbacillen enthielten. Die Züchtung der Bacillen ist nicht nur aus den Pseudotuberkeln gelungen, sondern auch aus dem Blut, obwohl nur kümmerlich. Wie Lubarsch und Mayr¹⁾, konnte auch ich konstatieren, daß dieser Butterbacillus im Froschkörper an Säurebeständigkeit verliert.

Bei Tauben gelang es mir nicht, mit dem Rabinowitsch'schen Bacillus tödlich zu infizieren. Die mit der dichten, aus 3—4-tägiger Agarkultur mit Bouillon bereiteten Aufschwemmung (1 g) intraperitoneal injizierten Tauben blieben am Leben, zwar schienen sie einige Tage nach der Injektion krank zu sein, indem sie aufgebläht und appetitlos waren; aber nach einigen Wochen hatten sie die Krankheit überstanden. Nach 4 Wochen tötete ich eine von diesen Tauben und fand an der Leber und am Bauchfell weißlich-graue, nadelstich- bis hirsekorngroße Pseudotuberkeln. Außerdem fand ich ein wenig fibrinöses Exsudat, aber Bakterien konnte ich nicht mehr nachweisen. Der Widerstand des Kaninchens gegen diesen Bacillus (wie Rabinowitsch erwähnt und ich bei meinen Versuchen konstatieren konnte) ist wahrscheinlich dem Umstande zuzuschreiben, daß der Butterbacillus in dem Kaninchenkörper nur ganz geringe Veränderungen hervorbringt, welche alsbald auch verschwinden und eben deshalb dem Leben dieser Tiere nicht gefährlich sind.

Schließlich muß ich bemerken, daß auch ich die von einigen Autoren negierte Behauptung Rabinowitsch's, daß es nämlich manchmal gelingt, andere Tiere mit den pathologischen Organen der eingegangenen Versuchstiere zu infizieren, in einigen Fällen bestätigen konnte.

Möllers Timotheebacillus.

Möller berichtet²⁾ in seiner Mitteilung über das *Bacterium phlei* (Timotheebacillus), daß bei intraperitonealer Impfung von Kaninchen und Meerschweinchen hin und wider schwere Lungenerkrankungen mit Kavernenbildung auftrat. Aus diesen Kavernen züchtete Möller das Bakterium und beobachtete dabei, daß diese Bacillen, wenn er sie „aus den Lungenkavernen wieder auf Nährböden züchten wollte, sehr schwer, oft erst nach 8—10 Tagen auf Glycerinagar zum Wachsen bringen waren, also dem langsamen Wachstum des Tuberkelbacillus schon näherkommen“. Auf Grund dessen und hinzugerechnet, daß nicht nur das makroskopische, sondern auch das histologische Bild der durch diesen Bacillus verursachten Veränderungen vollkommen ähnlich sein kann jenem Bilde, welches der Tuberkelbacillus verursacht, bemerkt Möller in jenem Bericht, „daß es wohl möglich sein dürfte, daß seine Bacillen in die Koch'schen übergehen können“. Später, in seinem Vortrag auf dem Londoner Tuberkulosekongreß³⁾ erwähnt Möller über die Pathogenität des Timotheebacillus folgendes: „Was die Pathogenität anbetrifft, so erzeugt der Timotheebacillus bei

1) Lubarsch und Mayr, Untersuchungen über die Wirkung der Mikroorganismen der Tuberkelpilzgruppe auf den Organismus des Frosches. (Arbeiten aus der patholog.-anatom. Abteilung des k. hygien. Institutes zu Posen.) Wiesbaden (J. Bergmann) 1901.

2) Möller, Mikroorganismen, die den Tuberkelbacillen verwandt sind und bei Tieren eine miliare Tuberkelkrankheit verursachen. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 24.)

3) Möller, Die Beziehungen des Tuberkelbacillus zu den anderen säurefesten Bakterien und zu den Strahlenpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXX. No. 14.)

Meerschweinchen fast die gleichen pathologischen Veränderungen, wie der Petri-Rabinowitschsche Butterbacillus. Anders verhält er sich (nach Lubarsch) bei Kaninchen. Hier werden mit dem Timotheebacillus, wenn er intravenös oder intraarteriell dem Tiere injiziert wird, Veränderungen hervorgerufen, die von echter Tuberkulose schwer zu unterscheiden sind. Durch die Bildung von Riesenzellen, Epitheloidzellen, Verkäsung wird in täuschender Aehnlichkeit das Bild der echten Tuberkulose geboten.“ Und was die Kultur des Timotheepilzes anbetrifft, sagt Möller: „Die Kultur bietet im allgemeinen im Aussehen deutliche Unterschiede von der des Tuberkelbacillus; eine Aehnlichkeit wird mitunter aber erzielt, wenn der Timotheebacillus nach mehrfacher Passage durch den Tierkörper bei gleichmäßiger Temperatur von 37° gezüchtet wird. Es ist dann auch eine Annäherung an das langsame Wachsen des Tuberkelbacillus zu bemerken.“

Bei meinen Versuchen konnte ich nicht konstatieren, daß in den Tieren, welche mit dem *Bact. phlei*²⁾ infiziert wurden, käsige Pneumonien oder Kavernen sich entwickeln. Ich hatte 4 Kaninchen mit diesem Bacillus intravenös bzw. intraperitoneal infiziert, und zwar mit ziemlich großen Dosen (1—1½ ccm der Agarbouillonaufschwemmung), die vorbenannten intravenös, die anderen intraperitoneal, jedoch fand ich in den Lungen keine pathologischen Veränderungen. Die Kaninchen sind sogar überhaupt nicht krank geworden, und nachdem ich nach 2, 3, 4 und nach 6 Wochen je eines töten ließ, fand ich die inneren Organe dieser Tiere vollkommen normal. Von den Meerschweinchen sind zwei am Leben geblieben, zwei sind umgestanden, eins nach 12, das andere nach 26 Tagen. Das Ergebnis der Obduktion war in beiden Fällen derselbe: Hyperämie in den Organen der Bauchhöhle, Pseudotuberkel sind nicht sichtbar, Timotheebacillen in mäßiger Zahl.

So wie die Kaninchen, ebenso überstanden die intraperitoneale Infektion ohne Unbill 2 graue Mäuse (0,2 ccm der Agarbouillonaufschwemmung) und 2 Frösche (0,4 ccm). Von 2 Tauben ist eine am Leben geblieben, die andere ist nach 57 Tagen abgestorben (Abmagerung, Zusammenkleben der Eingeweide und Pseudotuberkel an der Serosa der Gedärme). Jede Taube erhielt 1,2 ccm der Aufschwemmung.

Daß einige von den Versuchstieren gesund bleiben oder nur vorübergehend kränkeln, haben auch andere Autoren erfahren, besonders wenn die Tiere mit wenig Bakterien infiziert wurden [Kayserling³⁾, Kaiser⁴⁾]. Aber das Ergebnis meiner, wie auch anderer Versuche zeigt, daß der Timotheebacillus auch ohne Butter pathogen ist, und man kann nicht sagen, wie einige Forscher⁵⁾ behaupten, daß die tuberkelbacillenähnlichen säurefesten Bacillen nur mit Butter vermischt pathogen seien. Delille¹⁾ hat z. B. den Timotheebacillus in die subarachnoidale Höhle eines Hundes injiziert, worauf an den Hirnhäutchen Pseudotuberkeln sich entwickelten. Erfolgreich waren auch die Versuche

2) Die Kultur verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Doz. Krompacher.

3) Kayserling, Pseudotuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Tuberkulose u. Heilstättenwesen. 1902. Heft 1.)

4) Kaiser, Beitrag zur Differentialdiagnose zwischen den echten Tuberkelbacillen und den beiden säurefesten Bacillen *Grasbacillus Timothee-Görbersdorf* und *Butterbacillus Rabinowitsch*. Inaug.-Diss. Rostock 1902.

5) Vide Mayer, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien aus der Tuberkulosegruppe. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXVI. No. 11 u. 12.)

1) Delille, Mode de réaction des meninges aux bacilles pseudotuberculeux. (La semaine médicale. T. XXII. 1902.)

von Weber¹⁾, Kayserling²⁾, Kaiser³⁾, Lubarsch⁴⁾ und Freimuth⁵⁾. Lubarsch impfte diesen Bacillus in die Niere eines Kaninchens und auf diese Weise, sowie auch durch Infizierung des Blutes. sah er „typische Tuberkel mit Epitheloid- und Riesenzellen, sehr schöne Strahlenpilzherde mit langen, mitunter etwas spitzen Kolben“. Lubarsch hatte mit dem Timotheebacillus sich selbst auch eingepflegt; an der Impfungsstelle (Haut des Unterarmes) haben sich nach 8—10 Tagen „kleine rundliche Erhebungen“ entwickelt, welche anfänglich rötlich und von fester Konsistenz waren. Der Chirurg, welcher diese Gebilde am 11. Tage exstirpiert hatte, sah dieselben für Leichentuberkeln an. Der histologische Befund erinnerte jedoch nicht an die Tuberkulose, sondern entsprach vielmehr einer diffusen entzündlichen Wucherung. [Herbert⁶⁾, der sich mit seinem Butterbacillus ebenfalls impfte, hat an sich keinerlei pathologische Veränderungen bemerkt.] Freimuth hat Fröschen und Schlangen den Timotheebacillus in die Bauchhöhle injiziert und bemerkt, daß sich danach ein leukocytenreiches Exsudat bildete; weiterhin sahen Lubarsch und Mayr⁷⁾ im Froschkörper Pseudotuberkeln entstehen, nachdem sie den Timotheebacillus Fröschen unter die Haut impften. Die Behauptung der letztgenannten Forscher, daß die Säurebeständigkeit des Timotheebacillus im Froschkörper abnimmt, konnte auch ich konstatieren.

Der Timotheebacillus ist daher auch dann pathogen, wenn man ihn ohne Butter in das Versuchstier bringt; es ist jedoch zu bemerken — wie aus den erwähnten Tatsachen ersichtlich ist — daß der Grad seiner Pathogenität sehr verschieden sein kann und von verschiedenen Umständen (Quantität der eingeführten Bakterien, Virulenz, Tierspecies etc.) abhängt.

Möllers Mistbacillus.

Dieser von Möller aus Kuhmist gezüchtete Bacillus, welcher dem Timotheebacillus sehr nahe steht, hat nach dem Bericht⁸⁾ seines Entdeckers in Kaninchen und Meerschweinchen Pseudotuberkulose hervorgerufen. Nach Lubarsch⁹⁾ ist dieser Bacillus in Bezug auf das Kaninchen weniger pathogen als der Timotheebacillus. In die Nieren dieses Tieres geimpft, bringt er den wirklichen Tuberkeln weniger ähnliche Pseudotuberkel hervor als der Timotheebacillus.

Meine eigenen Versuche, zu welchen ich das Material aus dem Krälschen Laboratorium bezog, haben ebenfalls den Beweis ergeben, daß die Pathogenität dieses Mikroorganismus nicht hochgradig ist. Mit einer Bouillonaufschwemmung der 7-tägigen Agarkultur hatte ich ein

1) Weber, Ueber die tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen und die Bacillen des Smeqmas. (Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. XIX. Heft 2.)

2) Loc. cit.

3) Loc. cit.

4) Lubarsch, Zur Kenntnis der Strahlenpilze. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXI. 1899.)

5) Freimuth, Ueber das Verhalten des Grasbacillus II (Moeller) im Kaltblüterorganismus. (Dieses Centralbl. Bd. XXIX. p. 530.)

6) Herbert, Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. Inaug.-Diss. Tübingen. Braunschweig (Alb. Lembach) 1894.

7) Cit. Arbeit.

8) Möller, Ueber dem Tuberkelbacillus verwandte Mikroorganismen. (Wiener med. Wochenschr. 1898.)

9) Lubarsch, Zur Kenntnis der Strahlenpilze. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXI. 1899.)

Meerschweinchen ($1\frac{1}{2}$ ccm), eine Taube ($1\frac{1}{2}$ ccm) und einen Frosch (0,5 ccm) intraperitoneal, ein Kaninchen ($1\frac{1}{2}$ ccm) intravenös geimpft, und nur das Meerschweinchen starb ab nach 6 Tagen. (Sektionsbefund: Wenig blutiges Exsudat in der Bauchhöhle, am Netze hirsegroße, gelbliche Knötchen [Leukocyten und säurefeste Stäbchen]. Die Kultivierung des Mistbacillus aus dem Blut gelang ohne Schwierigkeiten.) Die übrigen Tiere blieben gesund. Nachdem ich den Versuch mit 3 Wochen alter Milchkultur wiederholte, hatte ich ein gänzlich negatives Resultat erreicht, trotzdem ich den Versuchstieren ziemlich große Mengen in die Bauchhöhle injizierte. (2 graue Mäuse erhielten je 0,5, 2 Kaninchen, 2 Meerschweinchen und 3 Tauben je 5 ccm.) Erfolgreicher war es, als ich den Versuchstieren die Bacillen einer mehrtägigen Agarkultur mit sterilisierter Butter bzw. mit Tafelöl vermengt injizierte. Je eine graue Maus bekam 0,4, jeder Frosch 0,5, jedes Kaninchen, Meerschweinchen und jede Taube 5 ccm dieser Emulsion intraperitoneal. Von diesen Tieren ist das mit ölicher Bacillenaufschwemmung infizierte Meerschweinchen (ein junges, schwaches Tier) nach 4 Tagen umgestanden. Bei der Obduktion der Leiche war dasselbe Gebilde sichtbar, welches ich vorhin in Beziehung auf die mit dem Timotheebacillus infizierten Meerschweinchen beschrieb, mit dem Unterschied, daß an der Oberfläche der Bauchorgane hier und da ein gelbliches, nadelstichgroßes Pünktchen (= Anfang der Pseudotuberkelbildung) wahrnehmbar war. Von den mit der butterigen Bacillenaufschwemmung infizierten Tieren ist das Kaninchen nach 3 Wochen abgestorben. An der Injektionsstelle war ein Absceß, darin viele säurefeste Bakterien. Die Tauben schienen zu kränkeln, doch blieben sie am Leben. Die eine Taube, welche Bacillen und Butter auf einmal erhielt, wurde nach 67 Tagen getötet und ich fand außer den die Bauchorgane zusammenklebenden und säurefeste Bakterien enthaltenden Klümpchen der nicht resorbierten Butter keine anderen pathologischen Veränderungen. Die Mäuse und Frösche blieben gesund.

Meine diesbezüglichen Tierversuche ergeben also dieselben Resultate, welche den Lubarschschen Erfahrungen entsprechen, nämlich daß dieser Mikroorganismus weniger pathogen ist, als der Timotheebacillus.

Möllers Grasbacillus No. II.

Wie der Entdecker dieses Kleinwesens berichtet¹⁾, tötet dieser Bacillus binnen 4—6 Wochen das Meerschweinchen, welches mit Agarkultur intraperitoneal infiziert wurde; doch in bedeutend kürzerer Zeit, in 10—20 Tagen bringt er tödliche Pseudotuberkulose hervor, wenn man das Versuchstier mit Milchkultur infiziert.

Nach Lubarsch²⁾ bringt dieser Bacillus in den warmblütigen Tieren eher einen diffusen entzündlichen Prozeß hervor, als Tuberkelbildungen, und seine Pathogenität ist in Bezug auf die Kaninchen schwächer, als jene des Timotheebacillus. In seinen mit Mayr³⁾ angestellten Untersuchungen fand Lubarsch, daß der Grasbacillus II in dem Froschkörper Pseudo-

1) Möller, Ein neuer säure- und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe, welche echte Verzweigungsformen bildet. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXV. 1899.)

2) Lubarsch, Zur Kenntnis der Strahlenpilze. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXI. 1899.)

3) Lubarsch und Mayr, Untersuchungen über die Wirkung der Mikroorganismen der Tuberkelpilzgruppe auf den Organismus des Frosches. (Arbeiten aus der path.-anat. Abteilung des k. hyg. Instituts zu Posen. 1901.)

tuberkel hervorbringt, den Frosch aber nicht tötet und im Froschkörper regressive Metamorphosen leidet. Freimuth¹⁾ behauptet demgegenüber, daß dieser Mikroorganismus den Frosch binnen 12–20 Tagen tötet. (Freimuth infizierte den Frosch intraperitoneal, Lubarsch und Mayr dagegen unter die Haut; wahrscheinlich haben die letztgenannten Verfasser auch weniger Bakterien in das Versuchstier gebracht und der Unterschied mag dem zuzuschreiben sein.) Nach Freimuth bildet dieser Mikroorganismus, wenn er 8 Tage lang im Froschkörper war, hier Verzweigungen und unterscheidet sich morphologisch von dem Tuberkelbacillus nicht.

Meine Erfahrungen sind folgende: Der Grasbacillus II, dessen Kultur ich aus dem Králschen Laboratorium erzog, verursachte bei den Versuchstieren nach intraperitonealer Einspritzung eine typische Pseudotuberkulose, nach subkutaner Infektion dagegen einen lokalen Absceß. Von den erkrankten Tieren geht ein Teil zu Grunde, andere gesunden nach einigen Wochen. Der Bacillus ist in dem Blut der meisten verendeten Versuchstiere auffindbar. Jedoch 2 Kaninchen, welche intravenös infiziert wurden, blieben gesund. Frösche, welchen in die Bauchhöhle ein großes Quantum des Grasbacillus II injiziert wurde, gingen am Ende der 2. Woche oder am Anfang der 3. Woche an typischer Pseudotuberkulose zu Grunde. Der Bacillus konnte nicht nur aus den Pseudotuberkeln, sondern auch aus dem Blut gezüchtet werden. Daß der Grasbacillus II an Säurefestigkeit im Froschkörper verliert (Lubarsch und Mayr), kann ich bestätigen.

Möllers Pseudoperlsuchtbacillus.

Außer Möller²⁾ wurde die Pathogenität dieses Bakteriums meines Wissens eingehend nur noch durch Potet³⁾ studiert. Dieser Autor bestätigte Möllers Bemerkungen, daß dieser Mikroorganismus bei Meerschweinchen Pseudotuberkulose hervorbringen kann, und fügt noch hinzu, daß die Injektion unter die Haut einen Absceß verursacht.

Die Resultate meiner Tierversuche (zu welchen mir eine Kultur von Herrn Dr. Krompecher gütigst überlassen wurde) stimmen überein mit den bisher erwähnten, nur bemerke ich noch, daß ein Teil meiner Versuchstiere die Infektion gut überstand, und daß ich aus dem Blut der eingegangenen Tiere den Mikroorganismus meist leicht züchten konnte. Einigemale fand ich, daß der aus dem Blut der grauen Mäuse auf Agar gezüchtete Mikroorganismus in der ersten Generation an Säurebeständigkeit verlor, diesen Verlust jedoch in der zweiten Generation zurückgewann.

Möllers Milchbacillus.

Ueber die Pathogenität dieses Bakteriums, welches nach der Angabe Möllers⁴⁾ sich von dem Grasbacillus II nicht wesentlich unterscheidet, meldet Potet⁵⁾, daß er bei Meerschweinchen nach subkutaner Impfung

1) Freimuth, Ueber Verhalten des Grasbacillus II (Moeller) Kaltblüterorganismus. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXIX. p. 530.)

2) Möller, Ueber die Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den anderen säurefesten Bakterien und zu den Strahlenpilzen. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXX. 1901.)

3) Potet, Etude sur les bactéries dites „acidophiles“. Les paratuberculibacilles. Paris (J. B. Bailliére et fils) 1902. p. 127.

4) Möller, Ueber die Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den anderen säurefesten Bakterien und zu den Strahlenpilzen. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXX. 1901.)

5) Potet, Etude sur les bactéries dites „acidophiles“. Les paratuberculibacilles. Paris (J. B. Bailliére et fils) 1902. p. 87.

einen Absceß, nach intraperitonealer Infektion dagegen eine Peritonitis mit Schwartenbildung und gelblichen Knötchen verursacht.

Ich erprobte die Pathogenität dieses Bacillus nicht nur an Meerschweinchen, sondern auch an Kaninchen, Fröschen, grauen Mäusen und an Tauben. (Die Kultur habe ich dem Herrn Doz. Krompacher zu danken.) Die mit 1 und 3 Wochen alter Milchkultur intraperitoneal geimpften Tiere (die grauen Mäuse erhielten 0,4, Frösche 1, Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben je 5 ccm) blieben größtenteils am Leben. Ein Meerschweinchen starb nach 24 Tagen ab, eine Taube nach 37 Tagen und ein Frosch schon nach 8 Tagen. An den Bauchorganen dieser drei hingefallenen Tiere waren Pseudotuberkeln in ziemlicher Menge zu finden. In den Pseudotuberkeln der Taube und des Frosches fand ich viel säurefeste Stäbchen, dagegen zeigten sich solche in den Knötchen des Meerschweinchens nur in geringer Zahl. Die Züchtung aus dem Blut gelang nur in einem Fall (Frosch). Weiterhin konnte ich feststellen, daß dieser Mikroorganismus im Froschkörper an Säurebeständigkeit verliert.

Viel früher gingen ein jene Meerschweinchen und Tauben, welchen ich den Infektionsstoff mit steriler Butter vermischt einspritzte.

Endlich muß ich noch bemerken, daß das Kaninchen diesem Bacillus gegenüber ziemlich widerstandsfähig ist, indem es selbst von dem mit Butter gemengten Infektionsstoff nicht tödlich erkrankte.

Möllers Smegmabacillus.

Möller¹⁾ berichtet über dieses säurefeste Stäbchen, daß dasselbe sich von allen anderen durch ihn gezüchteten säurefesten Mikroben dadurch unterscheidet, daß es bei Versuchstieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern, Tauben) keine pathologischen Veränderungen hervorbringt.

Meine Versuche, zu welchen mir die Kultur aus dem Institute für pathologische Anatomie No. II der Universität Budapest, von Dr. Krompacher gütigst überlassen wurde, führten zu folgendem Resultat: Die Reinkultur dieses Bakteriums verursachte bei den geimpften Tieren keine pathologischen Veränderungen; jedoch mit sterilisierter Butter oder mit sterilem Tafelöl vermengt in die Bauchhöhle gespritzt, zeigte sich der Smegmabacillus in einigen Fällen pathogen. Von den auf diese Weise behandelten fünf Kaninchen hatte ich in der Bauchhöhle des einen, nachdem es nach 14 Tagen getötet wurde, am Ort der Injektion einen nußgroßen Absceß gefunden. Ein anderes Kaninchen ging am 26. Tage zu Grunde und dessen Bauchhöhle war voll mit verschiedenen großen (auch linsen- bis fisolengroßen) eitrig-käsigen Knoten, welche den Smegmabacillus in großer Menge und noch in kultivierbarem Zustand enthielten. Die übrigen 3 Kaninchen blieben gesund.

Auf Grund dieser Resultate kann man also sagen, daß der Smegmabacillus für sich allein nicht pathogen ist, aber daß er es werden kann, wenn er mit Butter oder Oel vermengt in den Tierkörper gebracht wird.

Es sei endlich noch bemerkt, daß ich die Abnahme der Säurebeständigkeit dieses Mikroorganismus im Froschkörper einigemal konstatieren konnte.

1) Möller, Der Smegmabacillus. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXXI.)

Korns *Bac. friburgensis*.

Von diesem Bacillus, welchen Korn¹⁾ in Freiburger Butter fand, sagt Verf., daß derselbe in Kaninchen oder Meerschweinchen geimpft an der Impfstelle einen Absceß erzeugt, das Huhn ist refraktär gegen denselben, in der Bauchhöhle der weißen Ratte bringt er verkäsende Knötchen hervor (aber nur, wenn man ihn in großer Menge injiziert) und die intraperitoneal infizierten weißen Mäuse gehen nach 4—40 Tagen an Pseudotuberkulose zu Grunde.

Ich habe mit der aus dem Králschen Laboratorium erhaltenen Kultur gearbeitet und kam zu folgendem Resultate: Die aus 7-tägiger Agarkultur mit sterilisiertem Wasser bereitete Aufschwemmung in die Versuchstiere injiziert, kann ich Korns Beobachtungen bestätigen in Beziehung auf Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Mäuse. Als ich aber die Tiere mit 8 Tage alter Milchkultur impfte (Meerschweinchen, Kaninchen, Tauben erhielten je 3 ccm), ging das Meerschweinchen nach 10 Tagen und das Kaninchen nach 27 Tagen zu Grunde. In dem Meerschweinchen konnte man die oft erwähnte „schwartige Peritonitis“ sehen (mit Korns Bacillen in mäßiger Zahl); in dem Kaninchen war dasselbe, aber in minderem Grade, sichtbar, jedoch begleitet von einigen Pseudotuberkeln. Die Züchtung der Bacillen aus dem Blut der Tiere ist nicht gelungen.

Die an Tauben gemachten Untersuchungen ergaben, daß auch die Tauben nicht gänzlich refraktär sind. Von 3 Tauben, welche ich in die Bauchhöhle impfte, wurde nach 23 Tagen eine, nachdem dieselbe krank zu sein schien, geschlachtet. Ich fand an dem Bauchfell und an der Bauchwand, an der Impfstelle in unbeträchtlicher Menge gelblich-weiße, stecknadelkopfgroße Knötchen, in welchen wenig Bacillen waren. Die Bacillen zu züchten, ist nicht gelungen. Es ist wahrscheinlich, daß auch diese Taube sich erholt hätte, wie die 2 anderen auch am Leben blieben.

Endlich muß ich noch bemerken, daß ein Frosch, welchen ich mit der Reinkultur des *Bac. friburgensis* intraperitoneal infizierte, am 15. Tage zu Grunde ging. In der Bauchhöhle fand ich ein fibrinöses Exsudat, in welchem, sowie auch in den stark vergrößerten Lymphdrüsen viele, im Blut dagegen wenig lebende, säurefeste Bacillen waren, an welchen ich die Abnahme der Färbekraft und geringere Resistenz gegen die entfärbenden Agentien beobachten konnte.

Korns *Mykobacterium lacticola frib. d.*

Nach Korn²⁾ ist das Kaninchen äußerst empfänglich für diesen Butterbacillus. Dasselbe bekommt an der Impfstelle einen Absceß und in den inneren Organen der Tuberkulosis vollkommen entsprechende Tuberkeln. Empfänglich ist auch das Meerschweinchen und die Ratte; die Maus ist refraktär.

Die Beobachtungen des Verf. kann ich auf Grund meiner Tierversuche auch bestätigen (die Kultur hatte ich aus dem Králschen Laboratorium bezogen) und kann noch hinzusetzen, daß während einerseits die mit Reinkultur geimpften Tauben am Leben blieben, sind anderer-

1) Korn, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXV. 1899.)

2) Korn, Weitere Beiträge zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)

seits jene, welche mit Kultur gemengter Butter infiziert wurden, durchschnittlich nach 2 Monaten an Marasmus abgestorben.

Noch ist zu erwähnen, daß ein Frosch, welcher mit einer 2 Wochen alten Milchkultur (1 ccm) intraperitoneal infiziert wurde, nach 18 Tagen abstarb. Das Tier magerte sehr ab und in dessen Bauchhöhle waren kleine Pseudotuberkeln in großer Menge nachweisbar. Die säurefesten Bacillen, welche man in diesen Knötchen sah, waren den sich ungleichmäßig, nur stellenweise färbenden Tuberkelbacillen sehr ähnlich.

Marpmanns säurefester Bacillus aus Harn.

Von diesem Bacillus erwähnten die mit unserem Gegenstande beschäftigten Autoren nichts, und trotz der gewissenhaften Durchsuchung der betreffenden Literatur, konnte ich keine Spur finden, daß dieser Mikroorganismus je irgendwo beschrieben worden wäre.

In dem Prospekt des Králschen Laboratoriums fand ich ihn verzeichnet, wo derselbe unter folgendem Namen figuriert: „Säurefester Bacillus aus Harn, Marpmann.“ Marpmann züchtete also denselben aus Harn, wohin derselbe gewiß aus dem Smegma gelangte. Ich bezog die Kultur desselben aus dem Králschen Laboratorium.

Die Pathogenität dieses Bacillus untersuchend, konnte ich folgende Tatsachen feststellen:

Für das Kaninchen ist dieser Mikroorganismus in Reinkultur nicht pathogen. Mit Tafelöl in die Bauchhöhle gespritzt, verursacht er nur Abmagerung der Kaninchen.

Das Meerschweinchen ist empfänglich für diesen Bacillus. Nach einer Infektion in die Bauchhöhle sind die Meerschweinchen binnen 10—20 Tagen abgestorben. Bei der Obduktion fand ich folgende pathologische Erscheinungen: Hyperämie in den Bauchorganen; Vergrößerung der Lymphdrüsen in der Bauchhöhle; an der Impfstelle unter der Haut, wie auch an der Leber, Milz, am Netz und am Magen eiterig-käsige Herde, welche die Organe aneinanderkleben, und in welchen viele säurefeste Bacillen zu finden sind. In den geschwollenen Lymphknoten waren nur wenig Bacillen. Einigemal fand ich, daß der aus der Bauchhöhle der Meerschweinchen auf Agar gezüchtete Bacillus in der ersten Generation an Säurebeständigkeit verlor, jedoch diesen Verlust in der zweiten Generation zurückgewann.

Von den 3 intraperitoneal infizierten Tauben ist nur eine abgestorben, und zwar jene, welche viele Bakterien bekam, und zwar mit Oel vermengt. Diese Taube wurde einige Tage nach der Infektion krank und ging am 28. Tage zu Grunde. Bei der Obduktion sah man, daß die Bauchorgane von einem Exsudat zusammengeklebt sind; hier und da zeigten sich gelbliche, harte Knötchen von der Größe eines Stecknadelkopfes. Das Zentrum dieser Knötchen wird von einer trüben, fetten Flüssigkeit gebildet, welche sich ungleich färbende und nicht mehr kultivierbare säurefeste Stäbchen enthält.

Daß dieser Bacillus für den Froschkörper auch pathogen ist, konnte ich ebenfalls konstatieren. Der mit Reinkultur intraperitoneal infizierte Frosch ging nach 11 Tagen zu Grunde. Das Mesenterium dieses Tieres zeigte viele Pseudotuberkeln mit säurefesten Stäbchen in Menge.

Karlińskis säurefester Bacillus.

Herr Karliński war so gütig, mir eine Kultur seines (aus dem Nasenschleime gesunder und kranker Menschen gezüchteten) säurefesten Bacillus zu überlassen und so konnte ich meine Versuche mit einem unmittelbar von dem Autor erhaltenen Stoffe ausführen. Nach Karliński¹⁾ ist dieser Bacillus für Kaninchen und Mäuse nicht pathogen, aber das Meerschweinchen geht meistens nach 4—8 Wochen zu Grunde, wenn dasselbe mit Bouillonkultur intraperitoneal infiziert wird.

In der Leiche der abgestorbenen Tiere fand Karliński folgende Veränderungen: Fibrinöses Exsudat, welches die Gedärme zusammenklebt, viele Knötchen am Bauchfell, Vergrößerung der Lymphdrüsen, viele Knötchen in der Milz und an der Leber (auch erbsengroße); die Knötchen werden durch runde Zellen gebildet, ihr Zentrum ist nekrotisch, sie enthalten viele säurefeste Stäbchen. Riesenzellen sind nicht vorhanden. Der Bacillus war aus dem Blut dieser Tiere nicht züchtbar; seine Züchtung gelang nur aus dem Exsudat der Bauchhöhle. Die Lunge blieb immer gesund.

Auf Grund meiner eigenen Untersuchungen kann ich zu dem von Karliński Erwähnten noch folgendes hinzufügen: Dieser Bacillus kann für das Kaninchen und für die Maus auch pathogen werden, wenn man diesen Tieren die Bacillen mit sterilisierter Butter oder mit Tafelöl gemischt, in die Bauchhöhle injiziert; auf diese Weise ist es sogar möglich, daß auch die Tauben manchmal erkranken. Das Meerschweinchen, welches mit Bacillen und steriler Butter zugleich intraperitoneal geimpft wird, geht bedeutend früher ein als jenes, welches ebensoviel Bakterien bekommt, aber ohne Butter. In einem Falle gelang es mir auch, den Bacillus aus dem Blute eines solchen Meerschweinchens zu züchten. 2 Frösche, welchen ich die Karlińskischen säurefesten Bacillen in die Bauchhöhle spritzte, blieben gesund.

Preisz' säurefester Bacillus.

Diesen Bacillus züchtete Prof. Preisz aus dem Nasenschleime einer auf Perlsucht verdächtigen Kuh. Prof. Preisz hat mich zu großem Dank verpflichtet, daß er mir diesen Bacillus zu Versuchszwecken überließ, obwohl er denselben Mikroorganismus (welcher ohne Zweifel eine neue, bisher noch nicht beschriebene Gattung der säurefesten Bacillen ist) bis heute noch nicht beschrieb.

Eine detaillierte Beschreibung über diesen Bacillus wird demnächst Prof. Preisz selbst geben, und ich wünsche jetzt nur über die Pathogenität desselben einiges mitzuteilen.

Dieser Bacillus gehört zu jener Gruppe der säurefesten Bakterien, deren Pathogenität unbedeutend ist. Mit der intraperitonealen Injektion der Reinkultur gelang es mir nicht, bei den Versuchstieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse, Tauben, Frösche) eine Erkrankung hervorzubringen. Auch jene 4 Kaninchen, 4 Meerschweinchen und 4 Tauben, welchen je eine große Dosis dieser Bacillen mit sterilisierter Butter resp. Tafelöl vermengt, in die Bauchhöhle injiziert wurde, blieben gesund. Diese Tiere ließ ich teils am Leben, teils wurden dieselben nach 2, 4, 6 Wochen getötet. Sämtliche erwiesen sich als vollkommen gesund; nur eine Taube (nach 6 Wochen geschlachtet) zeigte in der Bauchhöhle

1) Karliński, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXIX. No. 12.)

einige miliare Knötchen. Als diese Knötchen zerdrückt wurden, trat aus denselben eine dicke, fette Masse (Butter) heraus, aber von Bacillen war keine Spur.

Kaninchen impfte ich auch intravenös, alle blieben gesund. Jedoch ist es interessant, daß dieser Mikrobe, unter die Haut geimpft, manchmal Abscesse verursacht. Von 4 Meerschweinchen und 4 Kaninchen, welche unter die Haut geimpft wurden, sind 2 Tiere abgestorben, nämlich 1 Kaninchen nach 21 Tagen und 1 Meerschweinchen nach 17 Tagen. Also von 8 Tieren 2. Die inneren Organe waren normal. Doch an der Impfstelle fand ich einen haselnußgroßen Absceß, in welchem kein anderer fremder Mikroorganismus war, als dieser säurefeste Bacillus, aber nur in unbedeutender Menge. Seine Züchtung gelang mir nicht, weder aus dem Absceß noch aus dem Blute. Die übrigen 6 Tiere blieben gesund.

Nach allem diesen ist zwar die Pathogenität dieses Bacillus äußerst unbedeutend, aber vollkommen unschädlich ist er doch nicht.

Budapest, den 2. Februar 1904.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.)]

Von Dr. Robert Scheller, Assistent am Institut.

Während das Studium der Immunkörper dank der bahnbrechenden Arbeiten R. Pfeiffers und seiner Schule eine ziemliche Klarheit über das Wesen der bakteriziden Vorgänge gezeitigt hat, hat sich die Kenntnis der anderen Immunsustanzen der bakteriziden Sera bis in die jüngste Zeit noch auf keine allgemein befriedigende Stufe erhoben.

Schon Pfeiffer und Kolle hoben die Verschiedenheit der Immunkörper und Agglutinine zwar hervor, aber über das Wesen der Agglutinine selbst konnte man sich lange Zeit keine klare Vorstellung machen. Der Kampf um Unität oder Dualität der Agglutinine und Präzipitine (resp. noch Koaguline) ist noch nicht entschieden. Wohl haben namentlich in jüngster Zeit zahlreiche namhafte Forscher wie R. Kraus, Kraus und v. Pirquet, Bail, Wassermann, Pick, Paltauf etc. in sehr eingehenden Untersuchungen diese Frage zum Gegenstand ihres Studiums gemacht, allein ihre theoretischen Auffassungen stehen vielfach im Widerspruch untereinander. Freilich scheint jetzt allmählich die Meinung sich Bahn zu brechen, daß Agglutination, Präzipitation und Koagulation Vorgänge sind, die durch gemeinschaftliche Substanzen im Serum hervorgerufen werden.

Bezüglich des Agglutinationsphänomens als solchem, sowie bezüglich der Eigenschaften agglutinierender Sera in ihrem Verhalten zu den agglutinablen Substanzen der Bakterien ergaben sich bis in die jüngste Zeit scheinbar unvereinbare Widersprüche. Nachdem Eisenberg und Volk eingehende Bindungsversuche mit agglutinierendem Serum und agglutinabler Bakteriensubstanz gemacht hatten — zuvor war schon

von Bordet, Nicolle, Winterberg u. a. die Gegenwart einer funktionellen und haptophoren Gruppe der Agglutinine konstatiert worden — brachte die Arbeit von Joos viele neue interessante Details über das Wesen der Agglutination und der Agglutinine, sowie über das Verhältnis der letzteren zur agglutinablen Substanz. Durch die Untersuchungen Joos' ist es erst verständlich geworden, warum die Arbeiten namhafter früherer Forscher bezüglich des Agglutinationsergebnisses ihrer Sera zu so differenten und widerspruchsvollen Resultaten führten. Wir haben durch Joos die Tatsache kennen gelernt, daß die verschiedene Agglutinationsstruktur der Immunsera durch die Verschiedenheit des Infektionsmodus bedingt ist.

Meine Untersuchungen, die ich in folgendem ausführlich erörtern will, sollen einen experimentellen Beitrag zum Wesen der Agglutinine bieten, sowie die Beziehungen der Agglutinine zur agglutinablen Substanz der Bakterien beleuchten und vielleicht einiges Licht auf die Bildungsweise und die Bindungsverhältnisse der agglutinierenden Substanzen werfen.

Ehe ich nun meine Versuche zu schildern beginne, möchte ich mir gestatten, ausführlicher auf die bereits oben erwähnte Arbeit von Joos einzugehen, da ich im Laufe meiner Untersuchungen, die ich zum Teil an einem anderen Orte veröffentliche, mich auch mit einer Nachprüfung der Joos'schen Versuchsanordnungen beschäftigen mußte. Ich möchte gleich hier bemerken, daß ich nur zum Teil die interessanten Ergebnisse der Joos'schen Forschung bestätigen konnte, während in einer Reihe von Versuchen von mir differente Resultate erzielt wurden, die dementsprechend zu anderen Deutungen führen mußten.

Die erste Reihe der Versuche, welche Joos angestellt hat, geschah mit Seris, die er durch Injektion lebender Typhusbacillen mittlerer Virulenz gewonnen hatte. Das von ihm benutzte Pferdeserum hatte für lebende Typhusbacillen eine Agglutinationskraft von 1 : 50 000 (Joos, Versuch 2). Wurde nun dieses Serum zwischen 60 und 62° selbst 6 Stunden lang erhitzt, so blieb die Agglutinationskraft des Serums lebenden Bakterien gegenüber unverändert bis 1 : 50 000 erhalten, wenn auch die Flockenbildung etwas verzögert war (Joos, Versuch 3). Ließ er dasselbe unerwärmte Serum auf Typhusbacillen einwirken, die zuvor 1 Stunde lang bei 60—62° erwärmt worden waren, so erhielt er nur eine Agglutination bis zur Verdünnung 1 : 2000 (Joos, Versuch 6). Zentrifugierte er jedoch diese agglutinierte Emulsion der erhitzten Typhusbacillen im Serum, dekantierte er darauf das oben stehende Serum, so wirkte dieses auf bei 60—62° erwärmte Bakterien nicht mehr ein, während es lebende Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1 : 20 000 gut agglutinierte (Joos, Versuch 7). Von dem auf 60—62° erhitzten Serum wurden die ebenfalls auf 60—62° erhitzten Bakterien nicht mehr agglutiniert (Joos, Versuch 8). Bringt er nun die oben schwimmende Flüssigkeit des Versuches 8 mit lebenden Bakterien zusammen, so erhält er wie im Experiment 7 vollständige Agglutination bis 1 : 20 000 (Joos, Versuch 9). Aehnliche Versuche stellte Joos auch mit einem mit lebenden Bakterien gewonnenen Meerschweinchen-serum, das niederwertig war, an. Aus den geschilderten Versuchen schließt nun Joos folgendes: Immuns Serum, das mit lebenden Bakterien gewonnen wurde, enthält 2 Arten von Agglutininen: 1) ein thermostabiles Agglutinin (α -Agglutinin), welches sich auch beim Erhitzen nicht verändert und sich bloß mit dem thermolabilen Agglutino-gen der lebenden

Bakterien (α -Agglutinogen) verbindet, während es auf tote Bakterien nicht mehr einwirkt und auch nicht von ihnen gebunden wird; 2) ein thermolabiles Agglutinin (β -Agglutinin), welches auf lebende und erhitzte Bakterien einwirkt, aber seine besondere Wirksamkeit und Bindungsfähigkeit für die thermostabile Agglutinogensubstanz (β -Agglutinogen) erweist.

In einer zweiten Reihe von Versuchen experimentiert Joos mit Kaninchenserum, welches durch Immunisation mit bei 60–62° erhitzten Bakterien gewonnen wurde. Dieses Serum wirkt auf erhitzte Bakterien ebensogut wie auf lebende Bakterien, auch wenn auf 62° erhitzt, wirkt es noch auf erhitzte Bakterien ein, zwar etwas schwächer als vorher und als jetzt noch auf intakte lebende Bakterien. Joos zieht aus diesen Versuchen folgende Schlüsse: In der ersten Versuchsreihe erwies es sich, daß tote Bakterien nur ein thermostabiles Agglutinogen besitzen (β -Agglutinogen), welches sich nur mit dem thermolabilen Agglutinin des unerhitzten Serums (β -Agglutinin) verbinden kann und nur von diesem agglutiniert wird. Daraus müßte nun a priori geschlossen werden, daß erhitzte Bakterien nur β -Agglutinogen enthalten und im Organismus nur ein Agglutinin erzeugen können, welches auf tote Bakterien ebensogut wie auf lebende einzuwirken vermag. Und in der Tat hat nun das mit erhitzten Bakterien gewonnene Serum diese Wirkung. Nun aber agglutiniert dieses Serum auch nach Erhitzung auf 60–62° noch erhitzte Bakterien, wenn auch etwas schwächer als zuvor. Daraus schließt Joos, daß durch Injektion erhitzter Bakterien ein „neues Agglutinin“ entstanden sein müsse, „welches sich normalerweise nicht in dem Serum der Tiere vorfindet, welche mit lebenden oder mit solchen Kulturen immunisiert worden sind, welche so getötet wurden, daß die Konstitution der Mikroben nicht verändert wird“. Er erklärt dies damit, daß die Zersetzungsprodukte des labilen α -Agglutinogens, die sich nun in den erhitzten Bakterien noch vorfinden, im stande sind, sich mit gewissen Zellrezeptoren zu verbinden, und, wenn in den Organismus eingeführt, dieses neue Agglutinin erzeugen.

Diese interessanten und exakten Versuche sowie die Erwägungen, die Joos an seine Resultate knüpft, bieten eine Menge neuer Details und erklären auch in gewissem Sinne die weitgehenden Widersprüche in den Versuchen früherer Autoren. Es ist hier zum ersten Male festgestellt worden, daß einerseits Immunisation mit Typhusbakterien, je nachdem sie lebend oder erhitzt angewandt waren, verschiedene immunisatorische Effekte erzielt, und daß andererseits demgemäß die Sera in ihrem Verhältnisse zu den lebenden und erhitzten Bakterien variieren.

Die einzelnen Schlußfolgerungen sowie die ganze aus diesen aufgebaute Theorie scheinen im ersten Momente gänzlich einwandfrei zu sein. Ich konnte aber bei ganz eingehendem Studium dieser Frage und nachdem ich, wie ich hier bemerken will, in meinen Untersuchungen zum Teil zu abweichenden Resultaten gekommen bin, schon an der Hand der Ergebnisse der Joosschen Versuchsreihen selbst zu Schlüssen gelangen, welche von denen der Joosschen Arbeit abweichen. Ich will, bevor ich auf meine Untersuchungen eingehe, es versuchen, in Kürze die Joosschen Versuche einer sachlichen Kritik zu unterziehen; ich kann jedoch schon jetzt bemerken, daß eine eventuelle Aenderung der Joosschen Theorie, die einerseits vielleicht schon aus seinen Versuchen, andererseits aus meinen Untersuchungen resultieren dürfte, die Bedeutung der Joosschen Arbeit nicht beeinträchtigen kann.

Betrachten wir nun die einzelnen Versuchsreihen der Joosschen Arbeit näher, so fällt uns auf, daß das mit lebenden Bakterien gewonnene Serum sowohl unerwärmt als auch erwärmt lebende Bakterien gleich gut agglutiniert (1:50 000). Wenn wir nun auch zunächst annehmen wollen, daß sich die Wirkung des α - und des β -Agglutinins nicht summiert (wie Joos in späteren Versuchen zu beweisen versucht) und daß deshalb der Ausfall des β -Agglutinins im erhitzten Serum keine Verminderung der Agglutinationsfähigkeit des Serums für lebende Bakterien hervorgerufen muß, so muß es uns doch merkwürdig erscheinen, daß nun nach Absättigung des Serums mit erhitzten Typhusbacillen die Agglutinationskraft des Serums für lebende Bakterien auf 1:20 000 herabgesetzt ist (das gleiche mit toten Bakterien abgesättigte Serum agglutinierte erhitzte Bakterien nicht mehr). Zudem erhält Joos mit erhitztem Serum, das zuvor lebende Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung 1:50 000 agglutinierte, und welches er jetzt der Absorption durch tote Bakterien aussetzte, hiernach ebenfalls nur eine Agglutination bis 1:20 000. Wenn nun Joos annimmt, daß die erhitzten Bakterien nur labiles β -Agglutinin binden, wie will er dann den Verlust von 30 000 α -Agglutinineinheiten erklären? Denn fällt es schon auf, daß das unerhitzte Bakterienserum, in welchem ja α - und β -Agglutinine gemischt vorhanden sind, im ursprünglichen Zustande sowohl als bei der Erhitzung (das ist nach Ausfall der β -Agglutinine) 1:50 000 agglutiniert, während es nach Einwirkung von erhitzten Bakterien nur noch 1:20 000 agglutiniert, so spricht es unbedingt noch mehr gegen die Joossche Annahme, wenn nun auch noch das erhitzte Serum, das doch nur noch wirksames α -Agglutinin hat, ebenfalls nach Einwirkung von erhitzten Typhusbacillen eine Einbuße an diesem α -Agglutinin erleidet (1:20 000 gegen eine ursprüngliche Wirksamkeit des erhitzten Serums von 1:50 000, also einen Verlust von 30 000 Agglutinationseinheiten). Daraus folgt für mich unbedingt die Schlußfolgerung, daß die erhitzten Typhusbacillen auch das von Joos supponierte thermostabile α -Agglutinin zu binden vermögen, daß sie zwar von erhitztem Serum, das nur noch wirksames α -Agglutinin enthält, nicht mehr agglutiniert werden, wohl aber ihm noch Agglutinin entziehen. Ist dies nun konstatiert, so fällt auch die Annahme, daß erhitzte Bakterien nur β -Agglutinin und kein α -Agglutinin bei Immunisation zu erzeugen vermögen; im Gegenteil müßte dann a priori angenommen werden, daß Einführung erhitzter Bakterien in den Organismus auch das Joossche α -Agglutinin erzeugen müßte.

Wieweit diese meine Zweifel an den Joosschen Schlußfolgerungen und zu welchen Folgerungen sie führen, werde ich anderenorts versuchen, an der Hand von Experimenten klarzulegen. Hier sei es mir gestattet, Versuche mitzuteilen, die ich mit Normalagglutinin angestellt habe.

Meine Agglutinationsversuche, sowohl dieser Versuchsreihe als auch jener Versuche, die ich mit Immunagglutininen angestellt habe, sind vorwiegend mit Typhusbacillen vorgenommen. Ich verwandte zum Zwecke des Vergleichs ihrer Eigenschaften Kulturen verschiedener Herkunft und verschiedener Virulenz. Haben doch schon Pfeiffer und Kollé in ihren Arbeiten mitgeteilt, daß bei den Cholerasträmmen, die sie untersuchten, parallel der Aenderung der Virulenz auch eine Abänderung der Agglutinabilität sich nachweisen ließ. Für den einzelnen Versuch habe ich die Bedingungen stets so gesetzt, daß ich stets mit

konstanten Faktoren, sowohl mit gleicher Serumkonzentration als auch mit gleicher Bakterienkonzentration, innerhalb aller Versuchsabteilungen rechnen konnte. Für die Erhitzungsversuche und sonstigen Parallelversuche der verschiedenen Sera wurde stets entweder das Serum unverdünnt geteilt und dann z. B. der eine Teil der betreffenden Erhitzung ausgesetzt oder es wurde eine genau festgesetzte Verdünnung in größerem Quantum hergestellt und hierauf in die verschiedenen erforderlichen Portionen geteilt, welche zur Erhitzung, Absättigung etc. in Verwendung kamen, so daß jedweder Versuch exaktest mit ein und derselben Serumverdünnung in allen seinen Teilen ausgeführt wurde. Gleich exakte Verhältnisse suchte ich für die Konzentration der Typhusbacillen in der Emulsion mit physiologischer Kochsalzlösung zu schaffen, indem stets zu einer Versuchsreihe dieselbe Bakterienaufschwemmung benutzt wurde, so daß ich sicher sein konnte, sowohl bei den Agglutinationsversuchen als auch bei den Bindungsversuchen stets als Kontrolle dieselbe Konzentration unerhitzter und erhitzter, unveränderter und abgesättigter Bakterien nebeneinander zu haben.

Im allgemeinen verwandte ich zur Agglutination stets 18-stündige Kulturen, die ich, je eine Kultur in 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung, aufschwemmte; die einzelnen Aufschwemmungen wurden zusammengegossen, sorgfältig gemischt und sodann geteilt. Der unerhitzte Teil blieb in der Kälte und Dunkelheit während der 1—2-stündigen Erhitzungszeit des anderen Teiles aufbewahrt.

Die Agglutination wurde nun so ausgeführt, daß zu je $\frac{1}{2}$ ccm dieser Typhusbacillenaufschwemmung je $\frac{1}{2}$ ccm der betreffenden Serumverdünnung zugegeben wurde. War z. B. die untere Grenze der Agglutination in jenem Röhrchen erreicht, welches nebst $\frac{1}{2}$ ccm der Typhusbacillenemulsion noch $\frac{1}{2}$ ccm der Serumverdünnung 1 : 1000 enthielt, so war die tatsächliche Agglutinationskraft des Serums 1 : 2000. Die Zahlen, die im folgenden angegeben werden, entsprechen stets letzterem tatsächlichen Agglutinationswerte des Serums.

Meine Versuche über Normalagglutinine habe ich zumeist mit normalem Pferdeserum angestellt, weil dieses ziemlich hoch Typhusbacillen agglutiniert und weil ich dasselbe später zu mit Typhusimmunpferdeserum kombinierten Versuchen heranziehen wollte. Zunächst mußte ich das Pferdeserum für lebende als auch für durch 2 Stunden bei 60—62° erhitzte Typhusbacillen austitrieren.

Wie aus Tabelle I ersichtlich, agglutinierte das normale Pferdeserum sowohl lebende als auch bei 60—62° erhitzte Typhusbacillen; die lebenden Bacillen in stärkeren Konzentrationen als die erhitzten.

Tabelle I.
Agglutinationskraft des normalen Pferdeserums A.

	1) auf lebende Typhusbacillen					2) für 60—62° erhitzte Typhusbacillen				
	Serumverdünnung					Serumverdünnung				
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
$\frac{1}{2}$ St.	vollständig	unvollständig	Spuren	0	0	Spuren	0	0	0	0
1 "	"	"	"	Spuren	0	"	0	0	0	0
2 "	"	"	"	"	0	"	Spuren	0	0	0
17 "	"	vollständig	vollständig	unvollständig	Spuren	unvollständig	unvollständig	Spuren	0	0
24 "	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0

Die Agglutination war auch dort, wo sie vollständig war, das ist bei den lebenden Bacillen, keine so feste, wie wir sie bei der Agglutination mit Immuneris finden, man konnte schon durch nicht allzu kräftiges Schütteln die lockeren Flocken desagglutinieren. Wie wir sahen, wirkt auch das Serum auf die bei 60–62° erhitzten Bakterien ein, wenn hier auch die Agglutination in nicht so hohen Verdünnungen auftritt, weniger fest und nicht so vollständig vor sich geht. Nun wiederholte ich denselben Versuch, nur mit dem Unterschiede, daß ich zuvor dasselbe Serum 1–2 Stunden bei 60–62° erhitze. Wie Tabelle II zeigt, bekomme ich in keinem der Röhren eine Agglutination.

Tabelle II.
Normales Pferdeserum 1 Stunde bei 60–62° erhitzt in seiner Agglutinationswirkung.

	a) für lebende Typhusbacillen					b) für bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen				
	Serumverdünnung					Serumverdünnung				
	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160
1/2 Stunde	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 Stunden	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wir sehen also, daß normales Pferdeserum ein thermolabiles Agglutinin enthält, welches sowohl lebende als auch auf 60–62° erhitzte Typhusbacillen noch agglutiniert, bei 60–62° aber büßt es seine agglutinierende Kraft ein.

Dieser Versuch wurde mit den verschiedensten normalen Pferdeseris wiederholt, stets erhielt ich dasselbe Verhältnis des erwärmten und unerwärmten Serums zu den lebenden und erhitzten Bakterien. Nur konnte ich im unverdünnten erwärmten Serum meistens noch Spuren von Agglutination mit lebenden Typhusbacillen erhalten. Die Grenze der Agglutinationskraft des Serums der meisten Pferde lag bei 1 : 100, welche Verdünnung noch unvollkommen und spurenweise Agglutination ergab. Beifolgende Tabelle III illustriert die Agglutinationsverhältnisse 5 weiterer normaler Pferdesera, als Beispiele aus der Reihe der von mir untersuchten Sera herausgegriffen.

Betrachten wir nun die Verhältnisse der Tabelle III, so finden wir die gleichen Resultate wie bei dem Pferdeserum A, nur mit geringer Schwankung der Agglutinationskraft der einzelnen Sera. Das normale Serum des Pferdes erwies sich in allen meinen Versuchen bei einer Temperatur von 60–62° thermolabil bis auf eine Spur thermostabilen Agglutinins im unverdünnten Serum, worauf ich unten zurückkommen werde. Die Proportion der Agglutinationskraft des unerhitzten normalen Pferdeserums für erhitzte Typhusbacillen zu der Agglutinationskraft für lebende Bacillen erwies sich aber als mehr oder minder variierend; in einem Falle sogar konnte ich gleiche Agglutinationskraft für lebende und erhitzte Bakterien nachweisen.

Ich möchte nun die Frage aufwerfen, ob wir es wohl mit einem einzigen Agglutinin zu tun haben, welches sowohl lebende als auch erhitzte Bakterien zur Agglutination bringt, oder ob wir mit zwei verschiedenen Agglutininen rechnen müssen, von denen das eine auf lebende, das andere auf erhitzte Bakterien agglutinierend wirkt. Diese Frage ist

Tabelle III.

Agglutinationswerte 5 verschiedener Pferdesera für Typhusbacillen.

	Unerhitztes Serum + lebende Typhus- bacillen		Unerhitztes Serum + bei 60–62° er- hitzte Typhus- bacillen		Erhitztes Serum + lebende Typhusbacillen		Erhitztes Serum + bei 60–62° erhitzte Typhus- bacillen	
Pferd B	1:10	vollständig	1:10	vollständig	1:10	} 0 oder Spuren keine Agglu- tination	1:10	} keine Agglu- tination
	1:20	„	1:20	beinahe voll- ständig	1:20			
	1:40	deutlich	1:40	deutlich	1:40			
	1:80	Spuren	1:80	Spuren	1:80			
	1:100	„	1:100	0	1:100			
Pferd C	1:10	beinahe voll- ständig	1:10	vollständig	1:10	} 0	1:10	} 0
	1:20	vollständig	1:20	beinahe voll- ständig	1:20			
	1:40	Spuren	1:40	Spuren	1:40			
Pferd D	1:10	unvollständig	1:10	beinahe voll- ständig	1:10	} 0	1:10	} 0
	1:20	„	1:20	beinahe voll- ständig	1:20			
	1:40	vollständig	1:40	deutlich	1:40			
	1:100	Spuren	1:100	0	1:100			
Pferd E	1:20	vollständig	1:20	beinahe voll- ständig	1:20	} 0	1:20	} 0
	1:40	beinahe voll- ständig	1:40	Spuren	1:40			
	1:80	Spuren	1:80	0	1:80			
	1:100	„	1:100	0	1:100			
Pferd F	1:20	vollständig	1:20	vollständig	1:20	} 0	1:20	} 0
	1:40	„	1:40	beinahe voll- ständig	1:40			
	1:80	Spuren	1:80	Spuren	1:80			
	1:100	„	1:100	„	1:100			

um so mehr gerechtfertigt, als wir sehen, daß eben die Agglutinationskraft ein und desselben Serums für lebende und erhitzte Bacillen quantitativ und qualitativ verschieden ist.

Es kommen nun hier folgende Eventualitäten in Betracht:

1) Entweder ist nur ein gemeinsames Agglutinin vorhanden.
2) Erhitzte Typhusbacillen und normale Typhusbacillen finden je ihr spezielles Agglutinin in normalem Pferdeserum vor oder

3) könnte noch die Möglichkeit bestehen, daß eine der beiden Modifikationen der Typhusbakterien — vorausgesetzt, daß 2 Agglutinine vorliegen — von beiden Agglutininen beeinflusst wird, die andere Art nur von einem der beiden.

Um diese Frage zu entscheiden, muß man nur normales Pferdeserum mit einer genügenden Menge von lebenden Typhusbacillen versetzen, so daß das abzentrifugierte Serum nicht mehr lebende Typhusbacillen agglutiniert. Das abzentrifugierte Serum dieses Versuches agglutiniert aber auch nicht mehr auf 60–62° erhitzte Bacillen. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß die erhitzten Bakterien im Serum kein Agglutinin vorfinden, das nicht von den lebenden Typhusbacillen gebunden würde; es könnte

nur noch die Eventualität bestehen, daß die lebenden Bakterien 2 Agglutinine binden, die erhitzten aber nur eines, dann müßte nach Absättigung mit toten Bakterien ein Rest von Agglutinationskraft für lebende Bakterien im Serum verbleiben. Der Versuch entscheidet im entgegengesetzten Sinne. Wird normales Pferdeserum (dasselbe, welches im vorhergehenden Versuche verwandt wurde) mit erhitzten Bakterien in genügender Konzentration zusammengebracht, so erlischt die Agglutinationskraft für lebende Bakterien vollständig. Wir haben also in dem normalen Pferdeserum ein und dieselbe agglutinierende Substanz für lebende und für auf 60—62° erhitzte Typhusbacillen gefunden. Ob diese Substanzen einheitlicher Natur sind oder aus verschiedenen Komponenten bestehen, läßt sich hier nicht entscheiden. Jedenfalls finden wir sie in verschiedenen Seris verschieden modifiziert, wenn wir in Betracht ziehen, daß das Verhältnis der Agglutination lebender Bacillen zu der Agglutination toter Bacillen in verschiedenen Seris ein verschiedenes ist.

Schon durch die Untersuchungen Ehrlichs, sodann hauptsächlich durch die eingehenden Untersuchungen von Nicolle sowie Winterberg, Eisenberg und Volk u. a. ist es festgestellt worden, daß bei den Agglutininen eine stabile haptophore Gruppe sowie eine labilere funktionelle Gruppe besteht. Wie verhält es sich nun mit den Normalagglutininen des normalen Pferdeserums? Enthält das erhitzte Normalpferdeserum, welches zwar nicht mehr Agglutinationskraft hat, noch Reste oder Derivate der Agglutinine, welche noch im stande sind, eine Bindung mit der agglutinablen Substanz der Typhusbacillen einzugehen, oder mit anderen Worten, ist hier nur eine funktionelle Gruppe zerstört worden mit Intaktbleiben der haptophoren Gruppe der Agglutinine? Diese Frage soll nun folgender Versuch beweisen.

Voraussetzung war für mich die Erwägung, daß wenn ich Bakterien mit einem Agglutinoide enthaltendem Serum behandelte und eine Bindung der Bakterien und dieser Agglutinoide eintritt, diese mit Agglutinoiden beladenen Bakterien nun schlechter oder gar nicht von einem sonst als gut agglutinierend austitriertem Serum agglutiniert werden dürfen, da die agglutinable Substanz der Bakterien ganz oder wenigstens zum Teil mit jenen Agglutininresten, den Agglutinoiden, gewissermaßen verstopft sein müßte.

Es sind dies Versuche, welche für die Agglutinoide des Immunsersums bereits Eisenberg und Volk sowie Wassermann angestellt haben, für meine Versuche mit Normalagglutinoiden verwandte ich nun ein normales Pferdeserum, das lebende Typhusbakterien bis 1:80 zu agglutinieren im stande war. Erhitzte ich nun dieses Serum durch eine Stunde auf 60—62°, so agglutinierte es lebende Typhusbakterien nicht mehr. In dieses unverdünnte, erhitzte Pferdeserum wurden lebende Typhusbakterien gebracht; das Serum ließ ich nun 2 Stunden bei Zimmertemperatur auf die Typhusbacillen einwirken; nach dieser Zeit, nach welcher keine Spur von Agglutination aufgetreten war, wurde nun diese Serumtyphusbacillenmischung zentrifugiert, das obenstehende Serum gänzlich abgegossen, die am Grunde befindlichen Typhusbakterien schwemmte ich in physiologischer Kochsalzlösung auf, zentrifugierte nunmehr diese Mischung wiederum und nach 6maliger Wiederholung dieser Prozedur konnte ich die Typhusbacillen als von den letzten Serumspuren gänzlich gereinigt betrachten. Als Kontrolle dienten mir

dieselben Prozeduren mit gleichen Mengen von Typhusbacillen, nur mit dem Unterschiede, daß diese ohne Serumzusatz nur mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt wurden. Beide Arten von Typhusbacillen, sowohl die mit Serum vorbehandelten als auch die nur mit physiologischer Kochsalzlösung versetzten, wurden nun der Einwirkung normalem Pferdeserums ausgesetzt. Das Resultat dieser Versuchsreihe in Bezug auf die Agglutination ist in Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

Agglutination der mit bei 60—62° erhitztem Pferdeserum vorbehandelten Bakterien und der nur mit physiologischer Kochsalzlösung vorbehandelten Bakterien, als Kontrolle, mit agglutinierendem, normalem Pferdeserum.

Verdünnung des normalen Pferdeserums	a) Kontrolle: mit den lebend. Typhusbakterien, die nur mit physiol. NaCl-Lösung zusammengebracht wurden	b) mit den lebend. Typhusbakterien, die mit dem unverdünnten erhitzten Serum gesättigt wurden
1:5	vollständig	0
1:10	„	0
1:20	„	0
1:40	„	0
1:80	unvollständig	0
1:160	0	0

Das Resultat dieses Versuches war, wie wir sehen, derart, daß die mit dem erhitzten Serum abgesättigten Bakterien nicht mehr von demselben normalen und intakten Pferdeserum agglutiniert wurden, welches die zur Kontrolle nur mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung 1:80 zu agglutinieren im stande ist. Hieraus schließe ich, daß in dem, wenn auch nicht mehr agglutinierenden, erhitzten Serum doch noch Restbestandteile der Agglutinine sein müssen, die noch Bindungsfähigkeit zu der agglutinablen Substanz der Typhusbacillen haben und sich mit dieser so fest verbinden, daß durch Besetzung der haptophoren Bakteriengruppen mit unserem niederwertigen normalen Pferdeserum keine Agglutination mehr eintrat, weil die Agglutinine zu wenig freie Bakteriengruppen mehr vorfanden. Mit anderen Worten, es sind die Agglutinine nicht zerstört worden; wir haben durch Erhitzung auf 60—62° nur eine Zerstörung der funktionellen Gruppe hervorgerufen mit Erhaltung der haptophoren Gruppe.

Sind wir nun durch den vorigen Versuch zu der Auffassung gelangt, daß die nach Erwärmung im normalen Serum zurückbleibenden Agglutinrestsubstanzen durch ihre Bindungsfähigkeit mit Typhusbacillen diese so beeinflussen können, daß eine erneuerte Bindung mit intakten Normalagglutininen des Pferdes nicht mehr in dem Maße erfolgt, daß noch Agglutination aufträte, so wollen wir nun einen Schritt weitergehen in unseren Erwägungen. Wir wollen uns nun fragen, ob diese Agglutinoide des normalen Pferdeserums, an Typhusbacillen verankert, im stande sind, ebenso wie sie es mit den Normalagglutininen getan haben, auch die Agglutination mit Agglutininen des Typhusimmunpferdeserums zu hemmen oder gar aufzuheben?

Es leitete mich hier die theoretische Erwägung, daß falls die Agglutination mit Immunserum vom Pferde durch jene Normalagglutinoide nicht gehemmt würde, sich daraus die theoretisch wichtige Konsequenz ergeben müßte, daß Normalagglutinine und Immunagglutinine verschiedene Substanzen sind, und andererseits würde daraus der Schluß

folgen, daß die haptophore Gruppe der agglutinablen Bakteriensubstanz für Normalagglutinine und Immunagglutinine nicht identisch wären. Fällt hingegen der Versuch in diesem Sinne aus, daß die Agglutinoide des normalen Pferdeserums an die Bakterienleiber verankert, hemmend auf die Agglutination des Pferdeimmunserums wirken, so ist der Beweis erbracht, daß die haptophoren Bakteriengruppen für Normal- und Immunagglutinin dieselben sind, und es ist andererseits die Möglichkeit gegeben, die Normal- und Immunagglutinine als identisch oder zum mindesten als einander verwandte Modifikationen einer und derselben Muttersubstanz zu betrachten. Ich ging so vor, daß ich den Versuch ebenso wie den vorigen ausgestaltete, nur mit dem Unterschiede, daß ich zur nachträglichen Agglutination der mit Agglutinoiden beladenen Bakterien ein Pferdeimmunserum verwandte, welches ich der Güte des Herrn Professor Dr. R. Paltauf in Wien verdanke. Dieses agglutinierte lebende Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1:20 000, die stärksten Konzentrationen dieses Serums bis zur Verdünnung 1:100 wirkten langsamer und unvollständiger agglutinierend ein, es dies eine Hemmung, die bereits von vielen Autoren, u. a. Eisenberg und Volk, Wassermann, Paltauf, Lipstein, Lipschütz u. a. konstatiert worden ist. Ich ließ dieses Serum auf die mit Normalagglutininen abgesättigten Typhusbacillen einwirken, und erhielt ein Resultat, welches Tabelle V zeigt.

Tabelle V.

Agglutination von Pferdetyphusimmunserum mit Typhusbakterien, die wie in Tabelle IV mit erhitztem Normalpferdeserum gesättigt und mit physiol. Kochsalzlösung gewaschen wurden und als Kontrolle mit Typhusbakterien, die nur mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt worden sind.

Verdünnung des Immunserums	Kontrolle: Typhusbakterien mit physiol. Kochsalzlösung behandelt u. verdünnt	Typhusbacillen mit Normalagglutinoiden gesättigt
1:100	fast vollständig	0
1:500	vollständig	0
1:1000	"	deutlich, aber unvollständig
1:5000	"	" " "
1:10 000	"	" " "
1:20 000	Spuren	" " 0 "

Betrachten wir nun das Resultat dieses Versuches, wie es sich in Tabelle V widerspiegelt, näher, so fällt uns die schon oben erwähnte Tatsache auf, daß das zu unserem Versuche verwandte Immunserum schon an und für sich in den stärkeren Konzentrationen bis zu einer Verdünnung von 1:100 keine vollständige Agglutinationskraft hat, während die stärkeren Verdünnungen darüber bis 1:10 000 vollständig agglutinieren, 1:20 000 nur spurenweise. Lassen wir nun dieses Serum auf die mit Normalagglutinoiden gesättigten Typhusbacillen einwirken, so vergrößert sich diese Hemmzone auf die ganze Wirkungsbreite des Serums. Die stärkeren Konzentrationen 1:100 (Kontrolle: fast vollständige Agglutination) und 1:500 (Kontrolle: vollständige Agglutination) zeigen nunmehr überhaupt keine Agglutination der mit Normalagglutinoiden gesättigten Typhusbacillen. Die Verdünnungen darüber bis 1:10 000 bleiben unvollständig; die Verdünnung 1:20 000 wirkt nicht mehr, auch nicht spurenweise agglutinierend. Wie sollen wir uns diese Resultate erklären? Eine genauere Mitteilung über die Wirkungsweise des Typhusimmunserums bleibt einer in allernächster Zeit zu ver-

öffentlichenden Arbeit überlassen, in welcher ich über meine Versuche mit Immunseris näher berichten werde. Hier will ich nur bemerken, daß ich mich der Meinung früherer Autoren anschließe, wenn ich glaube, daß die Hemmung der starken Konzentrationen im ursprünglichen Typhusimmunserum auf einen Agglutinoidgehalt des Immunserums zurückzuführen ist; die Agglutinoide des Immunserums besetzen, in den stärkeren Konzentrationen noch verhältnismäßig reichlich enthalten, teilweise die haptophoren Gruppen der agglutinablen Bakteriensubstanz und machen diese zum Teil unfähig, eine Bindung mit den Agglutininen des Serums einzugehen. Es ist dies gewissermaßen eine durch die Agglutinoide bedingte Ablenkung der haptophoren Gruppen der agglutinablen Substanz von den Agglutininen. In den stärkeren Verdünnungen tritt diese Wirkung nicht mehr zu Tage, weil die Konzentration der Agglutinoide nunmehr keine genügende ist. In Versuchen, deren Mitteilung in der in Kürze erscheinenden Arbeit erfolgt, fand ich die von vielen Autoren gemachte Annahme eines hemmenden Agglutinoidgehaltes im Immunserum dadurch bestätigt, daß ich die Hemmungszone heben konnte bei einer vorsichtigen Erhitzung, welche die Wirkungskraft des Serums nicht verminderte und ferner durch Bindung der Agglutinoide an minimalste Mengen von Typhusbacillen, welche, in das Serum gebracht, die Agglutinationskraft des Serums selbst in den stärksten Verdünnungen gänzlich unbeeinflusst ließen. Nach beiden Prozeduren fand ich die Hemmung vollständig beseitigt. In dem einen Falle konnte ich die schon sehr gesättigten Agglutinoide durch vorsichtiges Erhitzen wahrscheinlich dermaßen weiter abbauen, daß auch ihre Bindungsfähigkeit verloren ging, in dem anderen Falle war es möglich, diese Agglutinoide an die kleinen Mengen von Typhusbacillen zu verankern. Kehren wir nun zu unserem Versuche (Tabelle V) zurück, so sehen wir auch in diesem Versuche unsere Annahme bestätigt. Durch teilweise Besetzung der agglutinablen Substanz der Typhusbacillenleiber mit Normalagglutinoiden mußte das schon agglutinoidhaltige Typhusimmunserum eine weitere Hemmung erhalten, wie es sich in der Tabelle auch deutlich bei den Verdünnungen 1:100 und 1:500 ausspricht, die nunmehr überhaupt keine Agglutination mehr zeigen.

Hier sehen wir also eine Summation der Wirkung der Agglutinoide des Immunserums mit der ebenfalls hemmenden Wirkung der an die Bakterien bereits verankerten Agglutinoide des Normalserums, während in den stärkeren Verdünnungen bis 1:10000 nur mehr die Agglutinoide des Normalserums, welche an die Bakterien verankert waren, zur Wirkung gelangten, die Immunagglutinoide aber wegen ihrer starken Verdünnung nicht mehr in Wirksamkeit treten; daher das Phänomen, daß obzwar in den starken Konzentrationen bis 1:500 keine Agglutination auftrat, dieselbe, wenn auch unvollständig, in den Verdünnungen 1:1000, 1:5000, 1:10000 erfolgte. Wenn aber zum Unterschiede von der Kontrolle in dem Versuche bei 1:20000 keine Agglutination mehr auftrat, so darf uns das nicht wundern; denn nunmehr sind die Agglutinine des Immunserums so verdünnt, daß sie die bereits mit Agglutinoiden gesättigten Bakterienleiber nicht mehr zur Agglutination bringen können.

Daraus, daß die Normalagglutinoide durch ihre Anwesenheit die Immunagglutinine in ihrer Wirkung hemmen können, folgt für uns unabweislich die Annahme, daß die sich mit Agglutininen verbindenden Gruppen der Bakterienkörper — die haptophoren Gruppen der agglutinablen Substanz — für

Normalagglutinine und Immunagglutinine identisch sind, und des weiteren sehen wir für uns die Möglichkeit der Annahme offen, daß Immun- und Normalagglutinine dieselben Substanzen sein könnten, und das ist ja für uns ziemlich wichtig, wenn wir die anderweitig so glänzend gestützte Theorie beibehalten wollen, daß durch die Bindung normaler Substanzen bei der Immunisation eine Ueberproduktion dieser Substanzen, welche nun zu speziellen Immunsustanzen werden, im Organismus stattfindet.

Den in Tabelle V ausgeführten Versuch variierte ich nun so, daß ich Normalagglutinoide mit Immunserum gleichzeitig auf Typhusbacillen einwirken ließ: das zu diesem Zwecke verwandte Normalpferdeserum agglutinierte, wenn bei 60° erhitzt, lebende Typhusbacillen spurenweise. Dieses erhitzte Normalserum benutzte ich nun statt physiologischer Kochsalzlösung als Lösungsmittel resp. Verdünnungsmittel für mein Typhusimmunserum, indem ich in jenem die gewünschten Verdünnungen des Typhusimmunserums herstellte, also z. B. I. Verdünnung: 1 Teil Pferdeimmunserum + 9 Teile erhitztes Normalserum (das ist Pferdeimmunserumverdünnung 1:10), II. Verdünnung: 1 Teil von Verdünnung I + 9 Teile erhitztes Normalserum (= Verdünnung 1:100) u. s. w. Das Ergebnis dieses Versuches sehen wir in Tabelle VI.

Tabelle VI.

Einwirkung von Normalagglutinoiden auf die Agglutination mit Immunagglutininen bei gleichzeitiger Mischung von Normalagglutinoiden und Immunagglutininen.

	Konzentration	Agglutination lebender Typhusbakterien
I. Kontrolle bei 60° erhitztes normales Pferdeserum unverdünnt	1	Spuren
II. Kontrolle Pferdeimmunserum + physiol. NaCl-Lösung	1:100	fast vollständig
	1:1000	vollständig
	1:10 000	vollständig
	1:20 000	spurenweise
Versuch: Pferdeimmunserum in bei 60° erhitztem Normalpferdeserum verdünnt	1:100	Spuren (vergl. Kontrolle II fast vollständig)
	1:1000	vollständig
	1:10 000	Spuren (vergl. Kontrolle II: vollständig)
	1:20 000	Spuren

Wie wir sehen, findet auch hier eine bedeutende Hemmung der Agglutination durch die Agglutinoide des erhitzten Normalserums statt.

Werfen wir jetzt unsern Blick nochmals zurück auf Tabelle III. so fällt uns bei Pferd C und D schon bei der Anwendung frischen normalen Serums ebenfalls eine Hemmungszone der Agglutination in stärkeren Konzentrationen auf; auch diese können wir wahrscheinlich auf das Vorhandensein von Agglutinoiden im Serum zurückführen.

Lipschütz hat nun gefunden, daß für verschiedene Typhusstämme die Hemmungszonen, die bei der Agglutination mit ein und demselben Immunserum in den starken Konzentrationen auftreten, verschieden sind, daß die Hemmungszone bei einigen Stämmen breiter ist, d. h. bis zu höheren Verdünnungen hinaufgeht als bei anderen Typhusstämmen. Woran liegt das nun? Schon Lipschütz sprach die Wahrscheinlichkeit aus, daß diese Erscheinungen ihren Grund haben dürften in einem verschiedenen Aviditätsgrade der verschiedenen Typhusbacillienstämme

zu den Agglutinoiden. Um diese Frage zu lösen, stellte ich einen sehr einfachen Versuch an; ich ließ ein und dasselbe Gemisch von Immunagglutinin mit Normalagglutinin in der gleichen Weise, wie es Tabelle VI für einen Stamm demonstriert, auf verschiedene Typhusstämme einwirken. Wie ich vorher bereits annahm, konnte ich nunmehr eine sehr verschiedene Agglutinationswirkung ein und desselben Agglutininagglutinoidegemisches, wenn mit verschiedenen Typhusstämmen zusammengebracht, wahrnehmen, obzwar ich solche Stämme anwandte, welche von dem Serum zuvor in wesentlich gleicher Stärke agglutiniert wurden; wenn wir nun wissen, daß in diesem Versuche die Menge von Agglutininen und Agglutinoiden konstant war, und daß die vorhandenen Agglutinine allein gleiche Wirkung auf die betreffenden Stämme ausgeübt haben, so kann dieses Verhalten, daß nun unser Agglutininagglutinoidegemisch verschieden agglutinierend wirkt, nur in der individuell verschiedenen Avidität der einzelnen Typhusstämme zu den Agglutinoiden einerseits und den Agglutininen andererseits seinen Grund haben. Damit dürfte, wie ich glaube, für die bereits von Lipschütz gestellte Annahme der Beweis per analogiam erbracht sein, daß das von Lipschütz mitgeteilte Phänomen der wechselnden Hemmungszonen desselben Serums bei verschiedenen Typhusstämmen analog wie bei meinen Versuchen mit Agglutininagglutinoidegemisch auf der verschiedenen Avidität der Stämme zu den Agglutinoiden des Immunserums beruht.

Ich will nun an dieser Stelle noch einen Umstand erwähnen, den ich früher schon gestreift habe. Wenn ich früher sagte, daß das Normalpferdeserum bei 60—62° erhitzt nicht mehr agglutiniert, so gilt dies nur insofern, als keine deutliche Agglutination ins Auge fällt. Hingegen muß ich hier betonen, daß Spuren von Agglutination mit unverdünntem, erhitztem Normalserum vom Pferde fast stets im Verlaufe von 24 Stunden nach Beginn der Agglutinationsprobe nachweisbar waren. Ich wollte diese der Einfachheit wegen in der Mitteilung obiger Versuche vernachlässigen, weil ich glaubte, daß die Versuche dadurch verständlicher würden, und weil diese Spuren keinen Einfluß auf den Ausfall der Versuche zu nehmen imstande waren, da ja stets Kontrolle und Versuch einander gegenüberstanden.

Es ist jedoch sehr wichtig, diese Spuren von Agglutination in unverdünntem, erhitztem Normalserum zu konstatieren. Aus dem Vorhandensein dieser Spuren muß man doch den Schluß ziehen, daß in dem normalen Pferdeserum neben den oben beschriebenen labilen Anteilen der Agglutinine sich auch, wenn auch in geringem Maße, thermostabile Komponenten vorfinden. Diese thermostabilen Anteile kommen wahrscheinlich deshalb nur zu schwacher Wirkung in dem erhitzten Normalserum, weil sie einerseits zu wenig konzentriert vorhanden sind, andererseits vielleicht deshalb, weil ähnlich wie in obigen Versuchen ersichtlich war, die Agglutinoide, das sind die Agglutininreste der labilen Agglutinine, sie in ihrer Bindung und Wirkung hemmen.

Jedenfalls erscheint mir aber die Tatsache der Konstatierung thermostabiler Agglutinine im Normalserum von prinzipieller Bedeutung, da ja für den Fall, daß sie nicht vorhanden wären, a priori eine Identität der Normalagglutinine und Immunagglutinine ausgeschlossen wäre, welche letztere ja zum Teil thermostabiler Natur sind. Das Vorhandensein thermostabiler Agglutinine im Normalserum aber läßt uns jedenfalls die Möglichkeit der Annahme einer solchen Identität offen, wenn wir sie auch hier nicht nachweisen können. Ich habe bisher von thermo-

stabilen und thermolabilen Agglutininen gesprochen, und zwar deshalb, weil Joos in seiner Arbeit diese Unterscheidung macht; ob diese Arten aber wirklich funktionell und morphologisch voneinander zu trennen sind, läßt sich hier, wo es sich um so geringe Mengen von Agglutininen handelt, nicht feststellen; ich werde auf diese Frage eingehend in der bereits oben angekündigten Fortsetzung meiner Arbeit zurückkommen.

Ich möchte hier noch die Vermutung aussprechen, daß die Agglutinoide, die bei der Agglutination mit Pferdetyphusimmenserum meistens in den Konzentrationen 1:100 als hemmend in die Erscheinung treten, möglicherweise auf die labilen Normalagglutinine zurückzuführen sind.

Schließlich habe ich mich auch noch durch einen Versuch mit einem hochwertigen Normalpferdeserum überzeugen können, daß die Konzentration der Typhusbacillen in der Lösung die Agglutinationswirkung der Normalagglutinine beeinflusst (s. Tab. VII).

Tabelle VII.

Mengen der Typhusbacillen in 1 ccm der Agglutinationsprobe- röhrchen	Normalserum in physiologischer Kochsalzlösung			
		1:40	1:80	1:160
1 Kultur	Spuren	0	0	0
$\frac{1}{2}$ Kultur	deutlich	Spuren	0	0
$\frac{1}{4}$ Kultur	vollständig	vollständig	deutlich	0
$\frac{1}{8}$ Kultur	"	"	vollständig	Spuren
$\frac{1}{16}$ Kultur	"	"	"	deutlich

Es ist dies ein Befund, wie ihn Joos und vor ihm andere Autoren für das Immenserum mitgeteilt haben.

Ich will mir nun gestatten, die Resultate, die sich aus vorstehenden Untersuchungen im Zusammenhange mit Forschungen früherer Autoren für die Kenntnis der normalen Agglutinine ergeben, zusammenzufassen.

1) Normales Pferdeserum agglutiniert in für normales Serum verhältnismäßig hohen Verdünnungen lebende Typhusbacillen (1:100 und manchmal darüber).

2) Bei einer Temperatur von 60—62° abgetötete Typhusbacillen werden, wenn auch meist schwächer und nicht so fest wie die lebenden Typhusbacillen, ebenfalls von normalem Pferdeserum agglutiniert.

3) Bei 60—62° erhitztes Serum verliert bis auf geringe Spuren seine Agglutinationskraft sowohl für lebende und erhitzte Typhusbacillen.

Nach Joos müßten wir daher vorläufig das Vorhandensein eines thermolabilen Agglutinins und eines sich in jenen Spuren dokumentierenden thermostabilen Agglutinins annehmen.

4) Die Reste des supponierten thermolabilen Normalagglutinins, welche bei Erhitzen desselben bei 60—62° zurückbleiben, und die wir Agglutinoide nennen, können zwar nicht mehr Typhusbacillen agglutinieren, wohl aber verbinden sie sich gut mit ihnen. Hier handelt es sich also nur um Zerstörung der funktionellen Gruppe des Agglutinins mit Intaktbleiben der haptophoren Gruppe des Normalagglutinins.

5) Normalagglutinoide können durch Besetzung von Typhusbacillen diese in ihrer Agglutinabilität sowohl mit Immunagglutininen hemmen (woraus eben das Erhaltensein der haptophoren Gruppe in den Agglutinoiden hervorgeht).

6) Die gefundenen Tatsachen widersprechen nicht der Annahme, daß Normal- und Immunagglutinine identisch sein können.

7) Die Hemmung der Agglutination in starken Konzentrationen von Immunserum dürfte in dem Vorhandensein von Agglutinoiden seinen Grund haben.

8) Diese Hemmungszone ist bei verschiedenen Typhusstämmen deshalb in ihrer Breite verschieden, weil die im Serum enthaltenen Agglutinoide und Agglutinine in verschiedener Avidität und Proportion von den einzelnen Typhusstämmen gebunden werden.

9) Sowohl lebende als auch erhitze Bakterien sind im stande, den ganzen Agglutiningehalt des Normalserums zu binden, wodurch eine eventuelle Annahme für verschiedene Agglutinine für lebende und erhitze Bakterien hinfällig ist.

10) Häufig finden sich in frischen Normalseris Agglutinoide.

11) Die Dichte der Typhusbacillen in den Mischungen hat Einfluß auf die Agglutination mit Normalagglutininen.

Zum Schlusse ist es mir noch eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. Dr. R. Pfeiffer, für das bei meinen Untersuchungen bewiesene tatkräftige Interesse meinen allerverbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- Asakawa, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV.
 Bail, Prag. med. Wochenschr. 1901.
 — —, Arch. f. Hyg. 1902.
 Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.
 v. Drigalski u. Conrad, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1902.
 Eisenberg u. Volk, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XL. 1902.
 Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 4.
 Joos, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. 1901.
 — —, Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.
 Kraus, R., Wien. klin. Wochenschr. 1901.
 — —, Zeitschr. f. Heilkunde. 1902.
 Kraus u. v. Pirquet, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. No. 1.
 Lipstein, Dtsche med. Wochenschr. 1902.
 Lipschütz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1904. No. 6.
 Paltauf, R., Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 50. p. 946.
 Pfeiffer, R., Untersuchungen über das Choleragift. (Zeitschr. f. Hyg. 1892.)
 Pfeiffer, R. u. Kolle, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXI.
 Pick, E. P., Hofmeisters Beitr. z. chem. u. physiol. Pathol. Bd. I. 1901. p. 419.
 Radziewsky, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV.
 Valagussa, Ann. d'Igiene sperim. Vol. X. Fasc. 1.
 Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1903.
 Winterberg, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. 1899. p. 375.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten. Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

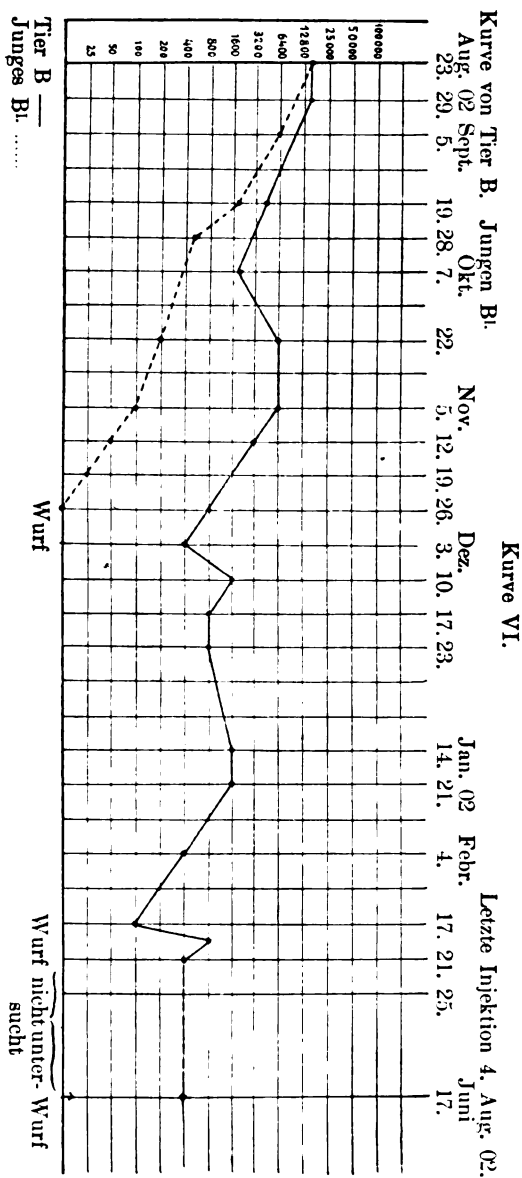
Von Dr. Carl Stäubli, med. pract. aus Zürich.

Mit 6 Kurven.

(Schluß.)

Eine andere Art von Schwankung ist diejenige, die sich jeweilen nur bei einem Tiere zeigte. So hatte ich mehrmals Gelegenheit, bei

Tieren, bei denen seit vielen Wochen keine Injektion mehr gemacht worden war, ein plötzliches, teils ganz erhebliches Ansteigen der Kurve zu konstatieren. So zeigte z. B. Tier B, das am 4. Aug. 1902 die letzte Injektion erhalten hatte, am 7. Okt. den Wert 1:2000. Von da an stieg die Kurve auf 1:6400 am 22. Okt., blieb auf dieser Höhe bis zum 5. Nov., um dann wieder zu fallen auf 1:400 am 3. Dez.



an stieg die Kurve auf 1:6400 am 22. Okt., blieb auf dieser Höhe bis zum 5. Nov., um dann wieder zu fallen auf 1:400 am 3. Dez.

Meerschweinchen D wurde am 29. Okt. 1902 zum letzten Male geimpft. Am 25. Febr. 1903 wurde ein Agglutinationswert von 1:6400 bestimmt. Das Tier wurde, ohne fernerhin behandelt zu werden, im Stalle weiter geführt. Am 1. Febr. 1904 zeigte dasselbe den überraschenden Wert 1:12800. Es ist mit Sicherheit anzunehmen, daß während der langen Zeit von $\frac{5}{4}$ Jahren der Wert bedeutend gesunken, dann aber auch aus irgend einem Grunde wieder angestiegen war. Dieser Befund war ein so überraschender, daß ich, wie ich ganz ausdrücklich hervorheben will, die Versuche doppelt, und jedesmal mit 3 ganz verschiedenen Stämmen ansetzte. 2 der Stämme zeigten bei 1:12800 ungefähr gleiche kleine Häufchen, während der dritte Stamm in der nächstfolgenden Verdünnung gerade noch ganz schwach angedeutete Agglutination zeigte. Es muß also als eine interessante Tatsache festgestellt werden, daß ein vorbehandeltes Meerschweinchen, welches $\frac{5}{4}$ Jahre lang nicht mehr mit Typhuskultur behan-

delt worden war, nach dieser Zeit noch ein Serum besaß, das in der Verdünnung von 1:ca. 13000 noch deutlich agglutinierte.

Tier C wurde am 22. Okt. 1902 zum letzten Male behandelt. Bis zum 23. Dez. des gleichen Jahres war der Titer auf 1:800 gefallen,

stieg dann aber bis zum 7. Jan. 1903 auf 1:1600, hielt sich auf dieser Höhe bis zum 21. Jan. und fiel nun wieder.

Auffallend ist aber besonders, daß ich öfters konstatieren konnte, daß kurz vor oder nach stattgehabtem Wurf der Titer des mütterlichen Serums stark schwankte, meist anstieg.

So zeigte Tier B am 3. Dez. 1902 am Tage des Wurfes den Wert 1:400, am 10. Dez. 1:1600, 17. Dez. 1:800, am 17. Febr. 1903 1:100. Wurf am 21. Febr. Wert 1:800, 25. Febr. 1903 1:400. Wurde nicht mehr untersucht bis 17. Juni. Wurf Wert 1:400. (Es ist wohl anzunehmen, daß vom 25. Febr. bis 17. Juni der Wert wieder bedeutend gesunken war.)

Tier D. Letzte Injektion 29. Okt. 1902. 7. Febr. 1902 1:3200, 20. Febr. Geburt 1:12 800, 25. Febr. 1:6400. Nicht mehr untersucht bis 1. April 1903. Wurf 1:6400. Am 1. Febr. 1904 Wert 1:12 800.

Tier C. Letzte Injektion 22. Okt. 1902. 17. Febr. 1903 1:400. Geburt 20./21. Febr. Wert 1:1600.

Der Organismus vermag also unter Umständen ohne weitere Bakterieninfektion ganz von sich aus den Gehalt an Agglutininen zu steigern.

Unwillkürlich legen diese Befunde Vergleiche mit der zeitlichen individuellen Disposition gegenüber Infektionskrankheiten nahe.

Uebergang der Typhusagglutinine von der Mutter auf die Descendenten.

In der Literatur sind schon öfters Angaben über die Beziehung des Agglutiningehaltes des fötalen zu demjenigen des mütterlichen Blutes veröffentlicht worden. Meist handelte es sich indessen um ganz vereinzelte klinische Beobachtungen, welche für die Lösung der uns beschäftigenden Frage nicht verwertet werden können. Es läßt sich nämlich in diesen Fällen von eigentlichen Infektionskrankheiten die Möglichkeit einer Mitbeteiligung des fötalen Organismus an der Erkrankung der Mutter nicht ausschließen, wie dies bei experimentellen Versuchen geschehen kann. Wird, wie dies bei allen unseren Versuchen der Fall war, die Agglutininbildung durch Injektion von abgetöteten Kulturen bedingt, so ist diese Fehlerquelle auszuschließen. Von den eingehenderen experimentellen Arbeiten erschien diejenige von Jurewitsch erst nach Sammlung des hauptsächlichsten Tatsachenmaterials und veranlaßte dessen vorläufige Veröffentlichung; eine andere, diejenige von Dieudonné, kam mir erst nach letzterer durch die freundliche Zusendung des Verfassers zu Gesicht.

Da zwischen den eigentlichen Immunkörpern und den Agglutininen so weitgehende Analogieen bestehen, und Befunde über die einen, in gewisser Beziehung wenigstens, auch Rückschlüsse auf die anderen gestatten, so habe ich bei Erwähnung der über die Vererbung handelnden Literatur, soweit sie mir zugänglich war, auch kurz der veröffentlichten diesbezüglichen Befunde auf dem ganzen Gebiete der Immunitätsfrage kurz Erwähnung getan.

Die Uebertragung der Immunität gegen pflanzliche Toxine wie Ricin und Abrin, sowie gegen Tetanusgift wurde experimentell bei Mäusen nachgewiesen durch Ehrlich, sowie Ehrlich und Hübner. Zu denselben Ergebnissen gelangte Vaillard mit Tetanus bei Meerschweinchen und Kaninchen, mit Cholera bei Meerschweinchen, mit Milz-

brand bei Kaninchen. Ransom (zit. aus Römer) konstatierte im Blute des Fohlens einer gegen Tetanus immunisierten Stute relativ großen Gehalt an Antitoxin. Römer deutete diesen Befund dahin, daß unter Einwirkung des Tetanusgiftes Hämorrhagieen der Placenta entstanden und dadurch vorübergehend eine Kommunikation zwischen mütterlichem und fötalem Blut eingetreten sei. Er selbst fand unmittelbar nach der Geburt keine Spur von Antitoxin und nimmt an, daß die Antitoxine untrennbar an die genuinen Proteine des Blutserums gebunden seien, die ihrerseits ein sehr geringes Dialysierungsvermögen besitzen und durch tierische Membranen, im vorliegenden Falle also durch das Chorionepithel und das Syncytium, nur schwer hindurchgehen. Demnach würden die fraglichen Stoffe in der Norm nicht oder nur in geringem Grade auf den Fötus übergehen. Ueber die Vererbung der Pocken resp. Vaccineimmunität haben unter anderen Burckhard und Chambrelent (zitiert aus Vaillard) Beobachtungen gemacht. Sie haben festgestellt, daß häufig eine Frau, die während der Gravidität mit Erfolg vacciniert worden ist, einem Kinde das Leben schenkt, das gegenüber der Vaccine unempfindlich ist. Zagari impfte 2 Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft an Pocken erkrankt waren, erfolglos mit Vaccine. Wolff prüfte andererseits die Frage, ob durch Vaccination der Mutter kurz vor der Geburt eine Vaccination des Fötus gelinge. Von 20 Fällen ergaben aber nur 3 Föten bei Vaccination nach der Geburt keine Jennerschen Bläschen. Er kommt zum Schlusse, daß die Placenta das Vaccinekontagium des mütterlichen Blutes vom kindlichen Organismus fernhält. Was nun die Vererbung der Typhusagglutinine betrifft, so wurden unter anderem folgende vereinzelte klinische Befunde veröffentlicht.

Prochaska (zit. aus Rodella) konstatierte bei einem Abort bei der Mutter deutliche Agglutination, beim Fötus negativen Befund. Etienne schreibt, daß das Serum eines Neugeborenen, das von einer typhösen Mutter stammte, keinerlei agglutinierende Eigenschaften besessen habe. Charrier und Apert (zit. aus Schumacher) konnten bei einem am 20. Tage der typhösen Erkrankung der Mutter ausgestoßenen 3-monatlichen Fötus keine Spur von Agglutination konstatieren. Dagliotti (zit. ebenda) machte eine ähnliche Wahrnehmung. Kasel und Mann beobachteten bei 3 Wöchnerinnen einen Agglutiningehalt von 1:50, während im Blute der Neugeborenen Häufchenbildung nicht zu finden war. Jehle kommt an Hand von 3 Fällen zum Schlusse, daß das Blutserum von Föten typhuskranker Mütter keine oder nur geringe Agglutinationskraft zeige, selbst dann, wenn die Erkrankung der Mutter in die zweite Hälfte der Schwangerschaft erfolgt. Vereinzelte positive klinische Befunde haben bekannt gegeben unter anderen Mossé (2 Fälle), Chambrelent und Saint-Philippe (zit. aus Schumacher), Scholtz (zit. daselbst), Schumacher (je 1 Fall). Bei den ersten 3 Fällen ist die Möglichkeit einer intrauterinen Miterkrankung der Frucht nicht auszuschließen. Im letzten Falle dagegen gedieh das Kind gut. Die Geburt fand ca. 4 Wochen nach dem ersten Auftreten der Typhuserkrankung im 9. Monat der Gravidität statt. Das mütterliche Serum zeigte den Wert 1:400, das kindliche einen solchen von 1:40. An Hand der in der Literatur bekannt gegebenen Fälle, sowie seiner eigenen Beobachtungen kommt Schumacher zum Schlusse, daß, wenn im Verlaufe des Abdominaltyphus das mütterliche Blut agglutinierende Kraft erworben, diese in einigen Fällen auf dem Blutwege dem Fötus mitge-

teilt, in anderen Fällen auf den mütterlichen Organismus beschränkt bleibt, letzteres hauptsächlich dann, wenn die Erkrankung schon gewisse Zeit vor dem Eintritt der Gravidität beendet war. Völlig wirkungslos soll das kindliche Blut auch dann sein, wenn die Erkrankung der Mutter in der ersten Hälfte der Schwangerschaft fällt. Dagegen lasse das Blut der Neugeborenen Agglutination nie vermissen, wenn die Mutter erst in den letzten Schwangerschaftsmonaten den Abdominaltyphus überstanden habe. An der Hand von experimentellen Untersuchungen je an einem Kaninchen und einem Meerschweinchen kommt Remlinger zum Schlusse, daß die Mutter nur dann die agglutinierende Eigenschaft auf ihre Jungen übertrage, wenn die Immunisation während der Trächtigkeit fortgesetzt worden sei. Das agglutinierende Vermögen sei beim Fötus um vieles schwächer (ca. $\frac{1}{10}$) als bei der Mutter. Weitere experimentelle Untersuchungen mit *Proteus vulgaris* haben angestellt Launelongue und Achard (zit. aus Schumacher) und Rodella (3 Fälle). Die betreffenden Autoren konstatierten Agglutiningehalt des fötalen Blutes. Mit Cholera hat Dieudonné 3 Meerschweinchen behandelt. Er kommt zu dem Schlußsatze, daß die Agglutinine in um so höherem Maße von den Eltern auf die Nachkommen vererbt werden, je hochgradiger die Eltern immunisiert sind.

Bei der eminent wichtigen Rolle, die heutzutage in der Wissenschaft und der praktischen Medizin die Fragen der Disposition, der Immunität und deren Vererbung spielen, andererseits bei der nahen Beziehung, die auf jeden Fall zwischen den eigentlichen Immunkörpern und den Agglutininen besteht, lohnte es sich wohl der Mühe, das Agglutinationsphänomen mit Bezug auf dessen Vererbung von der Mutter auf die Descendenten an der Hand eines größeren Materiales und über eine längere Zeitdauer sich erstreckender Beobachtungen zu studieren.

Es war zu erwarten, daß sich aus einer großen Zahl von Fällen trotz der Fülle der individuellen Verschiedenheiten gesetzmäßige Erscheinungen ableiten ließen, die zum Teil wenigstens die vielfachen Widersprüche zwischen den Schlußfolgerungen aus den einzelnen kasuistischen Beobachtungen einigermaßen aufzuklären im stande wären. Wie schon erwähnt, wurde ich durch eine Veröffentlichung von Jurewitsch zu einer vorläufigen Mitteilung der Resultate geführt. Da die nähere Ausführung seiner Untersuchungen hauptsächlich auch mit Bezug auf die Behandlung der Tiere noch nicht erfolgt ist, kann ich hier kurz resumieren. Nach ihm erwies sich die Agglutinationskraft der Frucht von 3–30mal schwächer als bei den Müttern. In den diesbezüglichen Fällen handelte es sich immer um Injektionen während der Schwangerschaft. Er konnte keine Beziehung des Agglutinationsvermögens bei der Frucht zu demjenigen der Mutter weder mit den Schwangerschaftsperioden noch mit dem Agglutinationswert des Blutes der Mutter in Zusammenhang bringen. Mit Bezug auf die passive Immunisierung stimmen meine Befunde im großen und ganzen mit den seinen überein. Zu einem entgegengesetzten Schlusse führen mich aber meine Resultate bei Jungen, die von Muttertieren stammten, die während der Trächtigkeit nicht behandelt worden waren. Nach Jurewitsch wäre in diesen Fällen nicht die Mutter als Quelle der Agglutinine im Blute der Früchte anzusehen, mit anderen Worten, es müßte sich um eine eigentliche Vererbung der Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, handeln.

Nach diesen einleitenden Betrachtungen mögen nun die eigenen Untersuchungsergebnisse Mitteilung finden.

Im ganzen kamen 51 Föten von 25 Würfen herrührend, zur Untersuchung. Davon stammten 44 Junge von 15 aktiv und 7 von 3 passiv immunisierten Muttertieren.

Tier	1. Injektion	Letzte Injektion vor der Geburt	Gesamte injizierte Bakterienmenge	Datum der Geburt	Serumtiter der mütterl. Blutes	Bezeichnung der Jungen	Serumtiter des fötalen Blutes	Zeit zwischen 1. Injektion u. Geburt				
B	11. Juni 02	4. Aug. 02	2 $\frac{4}{5}$ Kult.	23. Aug. 02	1:16 000	BI	1:16 000	2 $\frac{1}{2}$ Mon.				
						BII	1:16 000					
				3. Dez.	1:400	BIII	1:400	5 $\frac{1}{2}$ Mon.				
				21. Febr. 03	1:800	BIV	1:800					
						BV	1:800	8 $\frac{1}{2}$ Mon.				
						BVI	1:800					
						BVII	1:800	12 Mon.				
				17. Juni	1:400	BVIII	1:400					
C	11. Juni	22. Okt.	4 Kult.	13. Nov. 02	1:6400	CI	1:6400	5 Mon.				
						CII	1:6400					
				21. Febr. 03	1:1600	CIII	1:1600	8 $\frac{1}{2}$ Mon.				
				23. April	1:25	CIV	1:25					
						CV	1:25	10 $\frac{1}{2}$ M.				
D	11. Juni	29. Okt.	3 Kult.	15. Nov. 02	1:12 800	DI	1:12 800	5 Mon.				
						DII	1:12 800					
				21. Febr. 03	1:12 800	DIII	1:12 800	8 $\frac{1}{2}$ Mon.				
						DIV	1:12 800					
				1. Juni	1:6400	DV	1:6400	11 $\frac{1}{2}$ M.				
		DVI	1:6400									
F	22. Juli	4. Febr. 03	2 $\frac{1}{2}$ Kult.	25. Febr.	1:12 800	FI	1:12 800	7 Mon.				
J	30. Aug.	12. Sept. 02	2 $\frac{1}{2}$ Kult.	24. Sept. 02	1:3200	J ^I	1:200	3 $\frac{1}{4}$ Wch.				
						N ^I	1:20					
				29. Sept.	10. Okt.	$\frac{2}{3}$ Kult.	11. Okt.	1:800	N ^{II}	1:20	2 Wch.	
P	8. Okt.	21. Jan. 03	$\frac{1}{4}$ Kult.	29. Jan. 03	1:6400	PI	1:6400	3 $\frac{1}{2}$ Mon.				
Q	8. Okt.	21. Jan.	1 $\frac{2}{5}$ Kult.	23. Jan.	1:6400	Q ^I	1:6400	3 $\frac{1}{3}$ Mon.				
R	13. Okt.	29. Okt. 02	2 $\frac{2}{5}$ Kult.	5. Nov. 02	1:6400	R ^I	1:800	3 Wch.				
						R ^{II}	1:800					
S	13. Okt.	29. Okt.	2 $\frac{1}{5}$ Kult.	5. Nov.	1:12 800	S ^I	1:3200	3 Wch.				
						U ^I	1:3200					
				U	15. Okt.	12. Nov.	3 $\frac{1}{5}$ Kult.	20. Nov.	1:12 800	U ^{II}	1:3200	5 Wch.
										U ^{III}	1:3200	
W	28. Nov.	23. Dez.	1 $\frac{1}{8}$ Kult.	24. Dez.	1:400	W ^I	1:400	4 Wch.				
						W ^{II}	1:400					
						W ^{III}	1:400	5 Wch.				
						W ^{IV}	1:400					
						W ^V	1:400					
X	26. Nov.	10. Dez.	3 $\frac{1}{10}$ Kult.	22. Dez.	1:3200	X ^I	1:3200	4 Wch.				
						X ^{II}	1:3200					
						X ^{III}	1:3200	5 Wch.				
Y	26. Nov.	26. Nov.	1 $\frac{1}{20}$ Kult.	3. Dez.	1:50	Y ^I	1:25 neg.	1 Wch.				
a	17. Dez.	21. Jan. 03	1 $\frac{1}{4}$ Kult.	8. Febr. 03	1:3200	a ^I	1:800	6 Wch.				
						a ^{II}	1:800					

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich einmal, daß alle Jungen ein und desselben Wurfes den gleichen Agglutinations-titer besitzen.

Die Agglutinationskraft des mütterlichen Serums zur Zeit der Geburt bewegte sich zwischen 1:400 und 1:16 000, diejenige der Jungen zwischen 0 und 1:16 000.

Gleichen oder annähernd übereinstimmenden Gehalt an Agglutininen im mütterlichen und fötalen Serum konnte ich bei 15 Würfen feststellen, bei denen zwischen der 1. Injektion und der Geburt ein Zeitraum von 1 Monat bis 1 Jahr verstrichen war. Hiervon war die Geburt bei 1 Wurf 1 Jahr, bei 2 Würfen mehr als 10 Monate, bei 3 Würfen mehr als 8 Monate, bei 4 Würfen mehr als 5 Monate, bei 2 Würfen $3\frac{1}{2}$ Monate, bei 1 Wurf $2\frac{1}{2}$ Monate, bei 2 Würfen 1 Monat nach der 1. Injektion eingetreten. In 3 Fällen verhielt sich der Agglutinationswert des fötalen zu demjenigen des mütterlichen Serums wie 1:4, von denen der eine Wurf 6 Wochen, ein anderer 5 Wochen, der dritte 3 Wochen nach der 1. Injektion stattgefunden hatte. Das Verhältnis 1:8 und dasjenige 1:16 zeigte sich in je einem Falle nach 3-wöchentlicher Behandlungsdauer. Nur $\frac{1}{40}$ des mütterlichen Agglutinationswertes wies 1 Junges auf, dessen Mutter 14 Tage vor der Geburt die 1. Injektion erhalten hatte. Gar keine Agglutination fand sich in einem Falle, wo die Geburt des betreffenden Fötus 8 Tage nach Beginn der Behandlung der Mutter statthatte. Letztere besaß aber selbst nur den Wert 1:50. Es zeigt sich also, daß das Verhältnis der Agglutinationskraft des mütterlichen zu demjenigen des fötalen Serums in einer gewissen Abhängigkeit steht zur Zeit, die zwischen Injektion und Geburt verstrichen ist, so daß der Gehalt des fötalen Blutes an Agglutininen um so mehr dem Gehalt des mütterlichen gleichkommt, je mehr Injektion und Geburt zeitlich getrennt sind. Daß innerhalb dieser Beziehung auch der absolute Gehalt des maternen Blutes eine Rolle spielt, ist selbstverständlich.

Nachdem die Untersuchungsergebnisse bewiesen hatten, daß die durch eine Typhusinfektion im Organismus vor sich gehenden Blutveränderungen wenigstens mit Bezug auf die Agglutinine auch im Blute der Neugeborenen nachzuweisen sind, interessierte die Frage, welcher Herkunft diese Stoffe im fötalen Organismus zuzuschreiben sind. Es kommen drei Möglichkeiten in Betracht, die prinzipiell scharf voneinander zu trennen sind:

1) Es handelt sich um eine Vererbung erworbener Eigenschaften des Keimplasmas (im Sinne Darwins).

2) Die Agglutinine werden nur im mütterlichen Körper gebildet, gehen dann aber durch die Placenta in das fötale Blut über.

3) Die die Agglutininbildung bedingenden bakteriellen Substanzen gehen in den Fötus über und als Reaktion entstehen selbständig in diesem die Agglutinine. Hierbei können 2 Fälle unterschieden werden:

a) Es gehen die die Agglutinine bedingenden Substanzen nur in gelöster Form (agglutinogene Substanz) in den Fötus über und veranlassen daselbst die Agglutininbildung.

b) Die Bakterien selbst durchwachsen die Placenta, es kommt zu einer intrauterinen Infektion des Fötus und auf diese erfolgt als Infektionsreaktion die Agglutininbildung.

Wir haben bereits bei Berücksichtigung der Literatur Veranlassung genommen, darauf hinzuweisen, daß gerade dieser letzte Fall bei klinisch beobachteten Fällen die Ursache einer Agglutinationskraft des fötalen Blutes sein kann. Es ist bekannt, daß bei Typhus der Mutter eine Infektion des Fötus eintreten kann. So haben unter anderen Eberth im Herzblut, in Milz- und Lungensaft, P. Ernst im Herzblut und Milz, Janiszewski in Lunge, Milz, Niere, Mesenterialdrüsen, Freund und

Levy im Placentarblut, Milzsaft bei Föten von Müttern, die an Typhus erkrankt waren, Typhusbacillen nachweisen können. Die Annahme, daß auch der fötale Organismus auf bakterielle Infektion hin Agglutinine bildet, liegt nahe. Die in solchen Fällen im fötalen Serum nachgewiesenen Agglutinine können deshalb nicht ohne weiteres von der Mutter hergeleitet werden.

Eine Durchwachsung der Placenta durch die Typhusbacillen und Infektion des Fötus war in unseren Fällen ausgeschlossen, da ja nur totes Material injiziert wurde. Dagegen war möglich, daß lösliche bakterielle Substanzen (Agglutinogene) in den Fötus übertreten und dasselbst die Agglutininbildung veranlassen. Wäre dies der Fall, so dürfte erwartet werden, daß lebensfähige Junge solcher Muttertiere, die kurze Zeit vor der Geburt noch Bakterieninjektionen erhalten hatten, in der ersten Zeit nach der Geburt einen Anstieg ihres Agglutiningehaltes zeigten. Dies konnte aber in den diesbezüglichen Fällen nicht beobachtet werden. Auch spricht, wie wir später sehen werden, das rasche Sinken der Agglutinationskurve nach der Geburt gegen eine Mitbeteiligung des kindlichen Organismus an der Bildung der Agglutinine. Eine andere Möglichkeit, deren Wichtigkeit zum mindesten vorerst bewiesen werden mußte, war die, daß es sich um eine Vererbung der Agglutininbildung als eine erworbene Eigenschaft durch das Keimplasma handelt. Ehrlich hatte gezeigt, daß die von männlichen Mäusen erworbene Immunität gegen Ricin und Abrin nicht auf deren Nachkommen vererbt wird. Ehrlich und Hübner wiederholten die Versuche mit Tetanus mit demselben Resultat. Vaillard bestätigte die Befunde durch Versuche mit Tetanus an Meerschweinchen und Kaninchen, mit Cholera an Meerschweinchen und mit Milzbrand an Kaninchen. Dieudonné zeigte, daß dasselbe der Fall war mit Bezug auf die Choleraagglutinine. Bei meinen Versuchen zeigten die Jungen, die von einem männlichen Tier mit hoher agglutinierender Kraft und einem normalen Muttertier herstammten, keinerlei Agglutinationsgehalt ihres Blutes. Es findet also keine Vererbung der agglutinierenden Fähigkeiten vom Vater auf seine Nachkommen statt.

Jurewitsch kommt an Hand der 4 Fälle, bei denen während der Schwangerschaft keine Injektionen gemacht worden waren und bei denen, wenigstens in einem Falle, das Agglutinationsvermögen des fötalen Blutes des mütterlichen Serums um ein Vielfaches überstieg, zu dem Schlusse, daß in solchen Fällen nicht die Mutter als Quelle der Agglutinine im Blute der Frucht anzusehen sei.

Unter den von mir untersuchten Würfen lagen die Verhältnisse in 7 Fällen so, daß zur Zeit der Gravidität keinerlei bakterielle Substanzen dem mütterlichen Organismus zugeführt wurden.

Es sind das die Würfe von	letzte Injektion	Geburt	Zeit zwischen letzter Injektion und Geburt
Tier B	4. Aug. 1902	3. Dez. 1902	4 Monate
		21. Febr. 1903	6 $\frac{1}{2}$ "
		17. Juni	10 $\frac{1}{2}$ "
Tier C	22. Okt.	21. Febr.	4 "
		28. April	6 "
Tier D	29. Okt.	21. Febr.	4 "
		1. Juni	7 "

In allen diesen Fällen waren mütterliches und fötales Blut mit Bezug auf den Agglutinationswert gleich, oder zeigten nur solche geringe

Differenzen, die innerhalb der experimentellen Fehler liegen. Es ergaben sich keine Tatsachen, die zu dem Schlusse berechtigen, als ob der fötale Organismus die Fähigkeit erbe, selbst Agglutinine zu bilden, ohne daß dieser Vorgang im jugendlichen Individuum selbst durch bakterielle Infektion angeregt würde. Auch die bereits kurz erwähnte Art des Abfallens der Kurve nach der Geburt spricht gegen eine Mitbeteiligung der Jungen an der Agglutininbildung.

Ist nun aber die Annahme richtig, daß es sich um einen rein passiven Uebergang der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus durch die Placenta handelt, so ist zu erwarten, daß die Jungen auch dann in ihrem Blute diese Substanzen zeigen, wenn letztere nicht im mütterlichen Organismus gebildet, sondern auch der Mutter rein passiv mitgeteilt worden sind. Dieser Fall tritt dann ein, wenn dem Muttertiere Serum injiziert wird, das bereits fertig gebildete Agglutinine enthält.

Ich gewann solches Serum steril mit der früher beschriebenen Pipette B von anderen Meerschweinchen, die bereits einen sehr hohen Titer erreicht hatten.

Tier a hatte in der Zeit vom 12. Juli bis zu der am 30. Okt. 1902 stattgefundenen Geburt im ganzen 12 Injektionen von hochwertigem Serum erhalten. Zur Zeit des Wurfes zeigte das mütterliche Serum den Wert 1:400, die beiden Jungen den Wert 1:200.

Tier b wurde am 6., 7., 8., 10. und 12. Nov. 1902 je ca. 2 ccm hochwertigem Serums einverleibt. Wurf fand am 17. Nov. statt. Die 3 Jungen zeigten einen Agglutiningehalt von 1:200, das Muttertier 1:400.

Tier c. 6. und 7. Jan. 1903 Injektion von Serum. Geburt am 8. Jan. Serum der Mutter 1:1600, 2 Junge je 1:25.

In diesen Fällen war eine Mitbeteiligung des fötalen Organismus an der Agglutininbildung von vornherein ausgeschlossen. Es können also in der Tat die Agglutinine rein passiv von der Mutter auf die Jungen durch die Placenta hindurchgehen. Bei Betrachtung obiger Befunde fällt auf, daß in den beiden ersten Fällen das kindliche Serum sich zu demjenigen der Mutter wie 1:2 verhielt, im 3. Falle dagegen, wo die Jungen ca. 40 Stunden nach Behandlung der Mutter geworfen worden waren, diese nur einen sehr geringen Gehalt zeigen. Die Agglutinine scheinen demnach nur sehr langsam in den fötalen Kreislauf überzugehen.

Das schon mehrmals erwähnte rasche und stetige Abfallen der Kurve nach der Geburt spricht sehr dafür, daß es sich bei den Jungen auch der aktiv „immunisierten“ Mütter nur um einen passiven Uebergang der Agglutinine handelt. Es wurde früher darauf hingedeutet, wie lange Zeit der Organismus die aktiv gebildeten Agglutinine in seinem Blute aufzuweisen vermag, ja wie unter Umständen ohne erneute Injektion die Kurve wieder ansteigen kann. Wohl weisen auch diese Tiere ein relativ rasches Abfallen auf nach Aussetzen der Injektionen und nach Erreichen ihrer maximalen Höhe, halten sich dann aber meist längere Zeit auf mittleren Werten. Diese, sowie die nun zu besprechenden Verhältnisse der Jungen werden am besten durch eine Kurve des Tieres B und seines Jungen B¹ illustriert. Die letzte Injektion hatte am 4. Aug. 1902 stattgehabt. Man ersieht deutlich aus der Kurve den zeitweise ohne neue Injektionen auftretenden Anstieg, hauptsächlich um die Zeit der beiden Würfe am 3. Dez. 1902 und

21. Febr. 1903. Auch dem Wurfte vom 17. Juni dürfte eine Zunahme der Agglutinationskraft vorausgegangen sein (s. Kurve B und B^I).

Ganz anders als die aktiv immunisierten Tiere verhielt sich Tier a (d. h. das passiv „immunisierte“), sowie die Jungen der übrigen Tiere.

Tier a zeigte am 30. Okt. den Wert 1:400, am 19. Nov. den Wert 1:200, am 24. Nov. den Wert 1:100. Am 17. Dez. war bereits keine Spur von agglutinierender Kraft des Blutes mehr nachzuweisen. Die passiv einverleibten Agglutinine werden also im Gegensatz zu den aktiv gebildeten als etwas Körperfremdes wieder rasch eliminiert.

Die Jungen sämtlicher aktiv immunisierten Muttertiere zeigten, soweit sie in dieser Hinsicht weiter untersucht wurden, ein ganz übereinstimmendes Verhalten.

Junges von B = B ^I	Geburt	23. Aug. 02	Gewicht	56 g	Wert	1:16 000
		19. Sept.	125 "		1:2000	
		28. "			1:500	
		22. Okt.			1:200	
		5. Nov.	255 "		1:100	
		12. "			1:50	
		19. "			1:25	
		26. "	305 "		1:25 negativ	
Junges von C = C ^I		13. "	68 "		1:6400	
		10. Dez.			1:400	
		17. "			1:200	
		21. Jan. 03	250 "		1:25	
Junges von D = D ^I		15. Nov. 02	60 "		1:12 000	
		3. Dez.			1:6400	
		10. "			1:3200	
		Junge von X = X ^I , X ^{II} , X ^{III} .				
		XI	XII	XIII	Wert	
Geburt	22. Dez. 02	80 g	80 g	85 g	1:3200	
	7. Jan. 03	170 "	165 "	160 "	1:800	
	21. "	220 "	205 "	205 "	1:200	
	11. Febr.	280 "	260 "	225 "	1:25	X ^I u. X ^{II} (X ^{III} negat.)

Der Agglutinationswert fiel also beinahe gesetzmäßig bei allen Tieren ungefähr pro Woche um die Hälfte des früheren Wertes.

Zur richtigen Beurteilung des raschen Abfalles des Wertes darf immerhin nicht außer acht gelassen werden, daß die wachsenden Tiere per Woche durchschnittlich um $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ an Körpersubstanz zunehmen.

Unter Würdigung aller erörterten Punkte ergibt sich der Schluß, daß das in den Jungen von mit Typhusbakterien behandelten Muttertieren auftretende Agglutininvermögen als die Folge einer intrauterinen und „passiven Immunisierung“ des Fötus durch die Mutter aufzufassen ist.

Wie ich einleitend hervorgehoben habe, wurden fast ohne Ausnahme alle Resultate durch Injektion abgetöteter Typhusbakterien erhalten. Daß bei der eigentlichen Infektion durch lebende Bakterien dieselben Befunde sich ergaben, kann von vornherein angenommen werden. Für die Verhältnisse der Ausscheidung und der Vererbung kommt es jedenfalls nicht in Frage, ob die die Agglutininbildung bedingenden Substanzen als lebende oder als bereits abgetötete Bakterien dem Organismus zugeführt werden. Für die Frage der Bildung der Agglutinine nun besteht im Prinzip der Unterschied, daß bei experimentellen Untersuchungen, wie die vorliegenden, eine bekannte Menge Bakterien injiziert wird, bei der Typhusinfektion dagegen

nicht bestimmt werden kann, inwieweit sich die Bakterien vermehren, bis es dem infizierten Organismus endlich gelingt, ihrer Herr zu werden. Da sich aber gerade bei unseren Untersuchungen gezeigt hat, daß die absolute Menge der im tierischen Organismus zur Resorption gelangenden Typhusbakterien innerhalb weiter Grenzen ohne nachweisbaren Einfluß auf die Stärke der erreichten Agglutinationskraft ist, so bleibt als prinzipieller Unterschied zwischen der Injektion abgetöteten Materials und der eigentlichen Typhusinfektion nur noch die größere Schädigung des Gesamtorganismus bei der eigentlichen Typhuserkrankung übrig, woraus eine im allgemeinen geringere Anfangsenergie in der Agglutininbildung resultieren dürfte. Einige wenige Versuche mit Verwendung lebender Typhusbakterien unter langsamer Steigerung anfänglich sehr kleiner Dosen sprachen ganz für diese Annahme. In der ersten Zeit schien die Agglutininbildung etwas geringer zu sein, später verhielten sich die Tiere in Bezug auf den Verlauf der Kurve ganz wie solche, die mit abgetöteten Kulturen geimpft worden waren.

Ist auch beim Meerschweinchen insofern kein eigentlicher Abdominaltyphus hervorgerufen, als bei ihm durch Infektion mit lebenden Bakterien nicht die typischen Darmveränderungen auftreten, so hat dieser Umstand in der Frage des Agglutinationsphänomens keine Bedeutung. Es dürfte also mehr als nur eine hypothetische Verallgemeinerung sein, wenn ich für die uns hier interessierenden Verhältnisse die Injektion mit abgetöteten Typhusbakterien einer eigentlichen Typhusinfektion gleichstelle.

Schlußfolgerungen.

I. Bildung der Agglutinine.

1) Die Höhe des erreichten Agglutiningehaltes steht in keinem proportionalen Verhältnis zur injizierten Bakterienmenge, d. h. man kann bei einem bestimmten Tier schon mit sehr kleinen Mengen einen maximalen Wert erreichen, der auch bei Vermehrung der Injektionsdosen nicht mehr überschritten wird.

2) Die beim Meerschweinchen beobachteten Maxima bewegten sich im allgemeinen zwischen 1:12000 und 1:25000 (eventuell 1:50000).

3) Die Zunahme des Agglutiningehaltes des Blutes erfolgt während der Anstiegszeit nicht in einfachen Proportionen, sondern nach Potenzen.

4) Nach einer einmaligen Injektion erreicht der potentielle Anstieg den erstmaligen Höhepunkt in der 3.—4. Woche.

5) Ein mit Typhusmaterial behandeltes Meerschweinchen vermag auch ohne weitere Injektionen unter Umständen während vieler Monate einen sehr hohen Agglutininwert aufzuweisen. (Fall: $\frac{5}{4}$ Jahre, Wert 1:13000.)

6) Der Organismus vermag unter Umständen ohne erneute Bakterieninfektion ganz von sich aus den Gehalt an Agglutininen zu steigern.

Vererbung.

1) Sowohl die aktiv als auch die passiv erworbenen Typhusagglutinine gehen beim Meerschweinchen von der

Mutter auf den Fötus über. Bei den aktiv immunisierten Muttertieren wurde dies regelmäßig dann beobachtet, wenn der Beginn der Injektionen mindestens 14 Tage von der Geburt zurücklag.

2) Alle Jungen ein und desselben Wurfes zeigen denselben Agglutinationswert. Der Agglutinationswert des fötalen Serum nähert sich um so mehr dem des mütterlichen Serums resp. kommt ihm gleich, je mehr die Infektion und die Geburt zeitlich getrennt sind.

3) Die Vererbung der Agglutinine von der Mutter auf ihre Jungen ist als rein passiver Uebergang der Agglutinine durch die Placenta aufzufassen.

Für die Annahme einer Vererbung der Agglutininbildung als „erworbene Eigenschaft des Plasmas“ konnten keine Beweise erbracht werden, ebenso nicht für die Bildung der Agglutinine im fötalen Organismus.

Nach der kurzen Zusammenstellung der wesentlichen Resultate, die sich aus meinen Untersuchungen ergeben haben, sei es mir gestattet, auch auf einige weitere Gesichtspunkte einzutreten, die teils aus ihnen, teils durch den Vergleich mit den Schlußfolgerungen der früher veröffentlichten Versuche über die Ausscheidung der Agglutinine gewonnen werden können. In erster Linie macht es der Kurvenverlauf, dann die Erscheinung, daß der Organismus unter Umständen einen relativ hohen Agglutininwert lange Zeit beizubehalten, ja sogar von sich aus wieder zu steigern vermag, sehr unwahrscheinlich, daß es sich bei der Agglutininbildung nur um eine Umwandlung bakterieller Substanzen oder deren Derivate handle, wie es unter anderen Emmerich und Löw annehmen. Nach den erhaltenen Resultaten kann es sich nur um Substanzen handeln, die vom infizierten Organismus als Reaktion auf die Infektion hin gebildet werden, eine Annahme übrigens, die die allgemein herrschende ist.

Was die Ausscheidung und Vererbung betrifft, so ist vor allem in die Augen fallend, daß der immunisierte Tierorganismus im allgemeinen die Agglutinine sorgsam zurückhält, daß (die Milch ausgenommen) mit den Se- resp. Exkreten keine oder nur geringe Mengen dieser Substanzen für ihn verloren gehen, daß aber andererseits der mütterliche Organismus in weitgehendem Maße diese Agglutinine an das Junge sowohl während der Trächtigkeit intrauterin als auch bei der Säugung mit der Milch abgibt. Gerade diese Tatsache ist besonders hervorzuheben, nachdem diese Fragen durch die verschiedenen Mitteilungen von Behring und die dadurch vielfach hervorgerufenen Meinungsäußerungen und Kritiken wieder in den Vordergrund aktueller Interessen gerückt worden ist.

Was die Agglutinine betrifft, so kann nach den gewonnenen Resultaten nicht mehr gezweifelt werden, daß es sich bei diesen Körpern nicht nur um eine Uebertragung von der Mutter auf den Säugling durch die Milch handelt, wie dies Behring nach den Untersuchungen von Römer für die genuinen Eiweißstoffe (auch Antitoxine und Bakterien) annimmt, sondern daß auch eine direkte intrauterine Uebertragung von der Mutter auf den Fötus stattfindet. Wenn auch Römer die positiven Befunde der Uebertragung von Tetanusantitoxinen durch vorübergehende Hämorrhagieen der Placenta und dadurch entstehende Kommunikation zwischen mütterlichem und fötalem Organismus erklärt, so trifft das für unsere Fälle mit Bezug auf die

Agglutinine sicherlich nicht zu. Wohl wären diese Verhältnisse eventuell anzunehmen, wo die Injektionen und damit die Intoxikationen im Verlauf der Gravidität geschahen. Vollkommen auszuschließen ist aber eine solche Läsion der Placenta in den Fällen, wo das Tier bereits vor Eintritt der Schwangerschaft schon viele Wochen, ja Monate nicht mehr mit Typhusbacillen behandelt worden war. Diese Fälle sprechen ganz eindeutig für den normalen Uebergang der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus während des intrauterinen Lebens. Wie die durch die Mutter dem Säugling mit der Milch mitgegebenen Agglutinine ihm zu gute kommen, das aufzuklären wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein. Nach meinen zahlreichen Beobachtungen an Jungen immunisierter Tiere ist der Agglutiningehalt des Blutes während der Säugung nicht gestiegen, so daß für diese Tiere eine Nutzbarmachung der in der Milch enthaltenen Agglutinine nicht nachgewiesen werden konnte. Die wenigen (2) Versuche von Säugung Junger nicht immunisierter Tiere mit hochwertiger agglutininhaltiger Milch ergaben ein negatives Resultat. Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich also dahin resümieren, daß der Hauptmodus der Uebertragung der intrauterine ist, und daß, falls im Blute der Jungen Typhusagglutinine nachzuweisen sind, diese in erster Linie während des intrauterinen Lebens von der Mutter auf den Fötus übergegangen sind.

Am Schlusse meiner Arbeit erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. O. Wyss für die gütige Ueberlassung des Materiales des hygienischen Institutes, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Silberschmidt für den allezeit gütigst erteilten Rat meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Bail, O., Versuche über die Typhusagglutinine und Präzipitine. (Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. Heft 4.)
- 2) Beljaeff, Ueber den Mechanismus der Agglutination. (Sekt. f. Bakt. d. kaiserl. Gesellsch. f. Naturk., Ethnol. u. Anthropol. in Moskau. Sitz. 4. Okt. 1903. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1904. No. 10/11.)
- 3) Brieger und Ehrlich, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XIII. 1893. p. 336.)
- 4) Zeffalle, W., Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutinat. (Ann. de l'Institut. Pasteur. Année XVI. T. XVI. 1902. No. 8.)
- 5) Dieudonné, A., Ueber die Vererbung der Agglutinine bei choleraimmunisierten Meerschweinchen. (Festschr. d. phys.-med. Gesellsch. Würzburg 1899.)
- 6) Eberth, T. C., Geht der Typhusbacillus auf den Fötus über? (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. 1889. p. 643.)
- 7) Ehrlich, P., Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XII. 1892.)
- 8) Ehrlich, P. und Hübner, W., Ueber die Vererbung der Immunität bei Tetanus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVIII. 1894.)
- 9) Ernst, P., Intrauterine Typhusinfektion einer lebensfähigen Frucht. (Zieglers Beitr. zur pathol. Anat. u. zur allg. Path. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1890. Heft 1. p. 400.)
- 10) Etienne, Du sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (La Semaine médicale. 1896. p. 312.)
- 11) Forssman, T. et Lundström, E., Sur la marche de la combe d'antitoxine dans l'immunité active contre le botulisme. (Ann. de l'Inst. Past. T. XVI. 1902.)
- 12) Freund, H. W. und Levy, E., Ueber intrauterine Infektion mit Typhus abdominalis. (Berl. klin. Wochenschr. 1895. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1895.)
- 13) Janiszewski, Th., Uebertragung des Typhus auf den Fötus. (Münchener med. Wochenschr. 1893. No. 38. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893.)

- 14) **Jehle, L.**, Ueber die Agglutinationskraft und den Bakterienbefund in Föten typhuskranker Mütter. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 20.)
- 15) **Jurewitsch, W.**, Ueber den vererbten und intrauterinen Uebergang der agglutinierenden Eigenschaften des Blutes und die Bildung der Agglut. der Embryonen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1902. No. 1.)
- 16) **Kasel, Chr. und Mann, K.**, Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widalschen Serumiagnose des Unterleibstypus. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. XLVI. 1899. No. 18.)
- 17) **Nicolle, Ch. et Frenel**, Recherches sur le phénomène de l'agglutin. (Ann. de l'Inst. Past. T. XVI. 1902. No. 8.)
- 18) **Mossé**, Réaction agglutinante du sérum d'enfants nés de mères typhoidiques. (La semaine méd. 1897. p. 76.)
- 19) **Remlinger, P.**, Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité contre le bacille d'Eberth et du pouvoir agglutinant. (Ann. de l'Inst. Past. 1899.)
- 20) **Rodella, A.**, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei *Proteus vulgaris*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. No. 16/17.)
- 21) **Roemer**, Untersuchung über die intrauterine und extrauterine Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Descendenten. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 46.)
- 22) **Salomonsen et Madsen**, Recherches sur la marche de l'immunité active contre la diphtérie. (Ann. de l'Inst. Past. T. XI. 1896. p. 315.)
- 23) **Schantz, Friedr.**, Einleitung der Geburt wegen innerer Erkrankungen. (Wien. med. Wochenschr. Jahrg. LIII. No. 4 u. 5.)
- 24) **Schumacher, H.**, Beitrag zur Frage des Ueberganges der im Serum gesunder und typhuskranker Wöchnerinnen enthaltenen Agglutinine auf den kindlichen Organismus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVII. 1901.)
- 25) **Stäubli, C.**, Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhusagglutinine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 5.)
- 26) — —, Zur Frage des Ueberganges der Typhusagglutinine von der Mutter auf den Fötus. [Vorläufige Mitteilung.] (Ibid. No. 6.)
- 27) **Vaillard, L.**, Sur l'hérédité de l'immunité acquise. (Ann. d. l'Inst. Past. Année X. 1896. No. 2.)
- 28) **Wolff, M.**, Ueber Vererbung von Infektionskrankheiten. (Virchows Archiv. Bd. CXII. 1888. p. 136. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888.)
- 29) **Zagari, G.**, Alcune ricerche sperimentali sulla seroterapia antivayolosa. (L'ufficiale sanitario. 1897. Ref.: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. 1897. p. 246.)

Nachdruck verboten.

Zur Diagnose der Rattenpest.

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

Von **Dr. Kister**,
Abteilungsvorsteher am Hygienischen
Institut

und

Dr. P. Schmidt,
früher Assistent am Institut für
Schiffs- und Tropenkrankheiten, z. Zt.
a. d. kgl. bakteriol. Untersuchungs-
station Landau (Pfalz).

Mit 1 Tafel.

Da die Ratten bei der Verbreitung der Pest auf dem Seewege eine große Rolle spielen, wird ihre Vernichtung in den Hafenstädten eifrigst betrieben. Dieses geschieht vornehmlich an Bord der Schiffe durch Kohlenoxydgas oder Gift, weiterhin sucht man aber auch die in den Quaianlagen des Hafens befindlichen und etwa von den Schiffen entkommenen Ratten zu vertilgen. Zu letzterem Zwecke wurden versuchs- halber auf Veranlassung des Hafenarztes Dr. Nocht in den hiesigen Quaianlagen seiner Zeit eine große Anzahl Frettchen ausgesetzt, welche bekanntlich äußerst eifrige und geschickte Rattenfänger sind. Diese Tiere, wohl 30 an der Zahl, erlagen indes plötzlich sämtlich einer

Seuche. Die Untersuchung ergab als Ursache derselben ein unbewegliches, nach Form und Färbbarkeit sehr pestähnliches Stäbchen. Die weitere bakteriologische Untersuchung dieses Bakteriums wurde daraufhin sogleich, wenn auch die Frettchen im allgemeinen als pestimmun gelten, mit allen Mitteln ins Werk gesetzt. Die Untersuchung ergab nun glücklicherweise, daß es sich hier um andere Mikroben aus der Gruppe der anscheinend doch recht verbreiteten Bakterien der hämorrhagischen Septikämie handelte, welche allerdings in ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften sich höchst pestähnlich verhielten. Die Tafel 1¹⁾ zeigt das Aussehen dieses Bakteriums im Ausstrichpräparat aus den Organen einer der Impfung erlegenen Ratte. In Kulturen sind die Bakterien durchschnittlich etwas kleiner als Pestbakterien; nach Gram färben sie sich nicht. In folgendem seien kurz die kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften dieser Bakterien angeführt.

Kulturelle Eigenschaften.

Die Bakterien wachsen binnen 24 Stunden auf Blutserum, sowie auf Agarplatten mit und ohne Glycerinzusatz als verhältnismäßig zarter, opaker, irisierender, etwas festhaftender Belag. Auf Agarplatten bilden sie rundliche Kolonien mit hellerer, bläulicher, konzentrischer Randzone. Auf Gelatine ist das Wachstum ein spärliches, ohne Verflüssigung derselben. Auf Platten sind die Kolonien den auf Agar wachsenden ähnlich, nur etwas zarter und durchsichtiger. Die Bouillon wird innerhalb 8 Stunden leicht getrübt; manchmal bildet sich ein feines krümeliges Sediment, oft auch ein zartes Häutchen, das schon bei ganz geringer Erschütterung zerfällt. Auf Kartoffel bildet sich bei saurer Reaktion ein kaum sichtbarer Belag, bei alkalischer ein etwas reichlicherer, bräunlicher Rasen. Milch- und Traubenzucker wird nicht vergärt, Milch nicht koaguliert, Lackmusmolke nicht gerötet, Neutralrotagar nicht entfärbt. Auf Lackmus-Nutrose-Milchzucker-Agar wachsen üppig trübe blaue Kolonien. Hämoglobin-Agar nimmt eine schwarze Verfärbung an. Auf 3 Proz. Salzagar wurden Involutionsformen derart, wie sie Pestbakterien aufweisen, nicht beobachtet.

Tierpathogenität:

Das Bakterium ist pathogen für alle gebräuchlichen Versuchstiere. Die Virulenz kann durch mehrfache Tierpassagen bei derselben Tierart für diese speziell erheblich gesteigert werden unter gleichzeitiger Abnahme der Virulenz für andere Tierarten. Ratten gingen bei Mengen von $\frac{1}{5}$ Oese (1 Oese = ca. 2 mg Kulturmasse) nach subkutaner oder intraperitonealer Impfung in 20—30 Stunden unter den Erscheinungen einer hämorrhagischen Septikämie zu Grunde. Bei virulenten Kulturen genügt ein Stich mit einer infizierten Nadel. Das Unterhautzellgewebe ist in der Regel stark injiziert. Die Lymphdrüsen zunächst der Impfstelle sind vergrößert und hämorrhagisch. Oft weisen Leber und Lunge nekrotische bzw. hämorrhagische Herde auf. Meist bildet sich auch sekundäre Peritonitis und Pleuritis mit Exsudatbildung aus. In allen Organen findet sich das Bakterium mit deutlicher Polfärbung wieder, nur wenn die Tiere sehr rasch nach der Infektion oder sehr spät eingingen, waren keine Bakterien nachweisbar. In Gewebeschnitten sind die Blutgefäße von Bakterien ganz angefüllt. Nach Verfütterung von

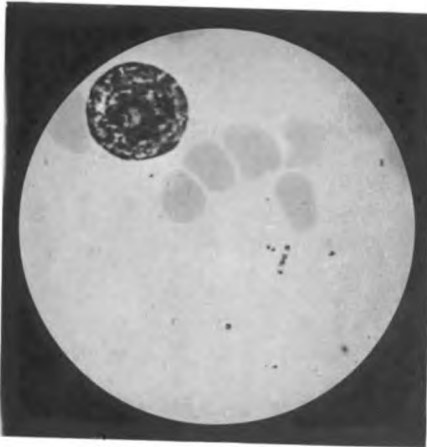
1) Das Photogramm wurde von Herrn Giemsa am Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten freundlichst angefertigt.

Kadavern gingen Ratten in 6—8 Tagen ein. Die Verfütterung von Kulturen erwies sich oft als unwirksam. Mäuse starben bei subkutaner Einverleibung von $\frac{1}{10}$ Oese in 6—16 Stunden, Meerschweinchen in 16—24 Stunden ($\frac{2}{10}$ Oese) bei subkutaner und intraperitonealer Einverleibung. Zur Zeit der höchsten Virulenz der Bakterien gelang es durch Verreibung von Bouillonkultur auf die rasierte Bauchhaut dreimal, Meerschweinchen innerhalb 24 Stunden zu töten. In der Milz wurden die eingepfropften Bakterien wieder gefunden. Der Sektionsbefund war jedoch nicht wie bei den Ratten ein pestähnlicher; so wurden miliare Herde in Milz und Leber und für Pest charakteristische Lungenherde nicht beobachtet. Bei subkutaner Verimpfung auf trüchtige Meerschweinchen konnte, wie dieses auch Hertel (Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-A. 1904. Heft 3) für die Geflügelcholera nachwies, der Uebergang der Mikroben auf den Fötus festgestellt werden. Kaninchen starben in 20—30 Stunden nach der Impfung ($\frac{2}{10}$ Oese). Hunde wurden einige Tage krank, erholten sich aber wieder. Katzen erwiesen sich als sehr empfänglich. Kleine Vögel wurden in ca. 12—16 Stunden durch $\frac{1}{10}$ Oese bei subkutaner Einverleibung getötet. Hühner erwiesen sich immer als refraktär.

Die Agglutinationsprüfung fiel negativ aus; die Bakterien wurden von Pestserum in keiner Konzentration beeinflusst.

Wir haben es also zu tun mit einem Stäbchen, welches in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie gehört, welche ja außerordentlich pestähnlich sind. Dasselbe war so virulent, daß die Versuchstiere schneller eingingen, als es in der Regel bei Pestinfektionen der Fall ist. Doch zeigte die Virulenz große Schwankungen und nahm nach einigen Monaten trotz vielfacher Tierpassagen sehr rasch ab, bis schließlich selbst sehr große Dosen keinerlei Effekt mehr erzielten.

Es sind nun zwar eine ganze Reihe mehr oder weniger pestähnlicher Bakterien bekannt, insbesondere ist es nichts Außergewöhnliches, daß auch andere Bakterien die den Pestbakterien eigene Polfärbung aufweisen; dieses beobachtet man selbst bei Bakterien, die in ihren biologischen Eigenschaften von Pestbakterien durchaus verschieden sind. Auch ist ja verständlich, daß die Bakterien, die derselben Gruppe angehören wie die Pestbakterien selbst, in den Kulturmerkmalen weitgehende Aehnlichkeit mit den Pestbakterien zeigen. Immerhin erschien uns aber unsere Beobachtung bemerkenswert. So kann die Tatsache von Bedeutung werden, daß die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie zu seucheartigem Sterben bei den zur Vertilgung der Ratten verwendeten Frettchen Anlaß geben können. Es liegt darin die Gefahr, daß bei einem wie dem oben geschilderten Befund der Verdacht auf eine Infektion der Frettchen durch eine pestinfizierte Ratte entsteht, und bei einem derartigen pestähnlichen Befunde wird die Entscheidung, ob es sich in der Tat um Pest handelt, nicht ohne Schwierigkeit und nicht mit der wünschenswerten Schnelligkeit zu stellen sein. Der Verdacht, daß pestinfizierte Ratten in Hafenanlagen sich aufhalten, wird die weitgehendsten Konsequenzen nach sich ziehen. Aus unserem Fall geht nun aber hervor, daß die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie auch unter Frettchen Seuchen hervorrufen können. Wodurch diese Frettchen infiziert wurden, konnte nicht festgestellt werden. Es wäre aber denkbar, daß der Ausgangspunkt der Epidemie in einer mit den Bakterien infizierten Ratte zu suchen sei. Dagegen sprach allerdings, daß ein auffallendes Rattensterben in derselben Zeit nicht beobachtet



warde
Frank
unsa
redne
Veria
Schiff
den m
igen
Beton
ersch
erwe
V
auch
wären
den
Maam
mal
skthe
Frank
Schiff
Auch
war
fess
best
Beton
we
sch
Beton

Beton
A

war
sch

sch
sch

sch
sch

sch
sch

wurde. Wenn es aber der Fall gewesen wäre, daß in der Tat der Frettchenepidemie eine Rattenepidemie, durch dasselbe Bakterium verursacht, vorausgegangen wäre, so muß man mit der Möglichkeit rechnen, daß gelegentlich auch einmal durch dieses Bakterium ein den Verdacht auf Pest erweckendes massenhaftes Rattensterben auf einem Schiff oder auf dem Lande hervorgerufen wird. Dadurch könnten aber den mit der Untersuchung pestverdächtigen Materials betrauten Bakteriologen ernste Schwierigkeiten erwachsen; jedenfalls würde ein derartiger Befund zunächst den Verdacht auf Pest erwecken müssen, der dann erst bei eingehenderer Untersuchung als nicht zu Recht bestehend sich erweisen würde.

Weiterhin ist bei unserem Fall bemerkenswert, daß die Bakterien auch bei kutaner Verimpfung Meerschweinchen zu töten im stande waren. Bekanntlich ist nun aber die kutane Impfung von Meerschweinchen neben der Agglutination das sicherste Hilfsmittel bei der Pestdiagnose. Der Agglutination können sich jedoch unter Umständen einmal Schwierigkeiten entgegenstellen; die Kulturmasse haftete, wie solches auch bei Pestbakterienstämmen der Fall sein kann, bei den Frettchenbakterien hin und wieder so fest am Agarnährboden, daß eine gleichmäßige Aufschwemmung derselben und damit eine einwandfreie Agglutinationsprüfung bei der betreffenden Agarkultur nicht möglich war. Es wäre also sehr bedauerlich, wenn die Verlässlichkeit des Tierversuchs Einschränkungen erfahren würde. Bei kutaner Verimpfung pestverdächtigen Materials ist es daher empfehlenswert, daß die Verreibung auf völlig unverletzter und zwar, da sowohl durch das Rasieren wie auch durch Epilieren Gefäßzerreißen bewirkt werden können, am besten wohl auf durch vorsichtiges Abschneiden mittelst Schere möglichst von den Haaren befreiter Haut erfolgt.

Nachdruck verboten.

Färbungen agglutiniertes Typhusbacillen mit Silbernitrat.

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser-Franz-Josef-Spitals in Wien.]

Von Dr. A. Hinterberger in Wien.

Mit 1 Tafel.

Die Agglutination bildet seit Jahren schon ein Thema, dessen theoretische Begründung ebenso wie dessen feinere Vorgänge Gegenstand der Diskussion sind.

Da ich seit längerer Zeit bereits mich mit Geißelfärbungen befasse, war es mir interessant, auch einmal Geißeln agglutiniertes Bakterien anzusehen, und ich machte mich daran, Bakterien in agglutiniertem Zustand auf Geißeln zu färben. Ich tat dies vor allem in der Erwartung, durch irgend eine Veränderung an den Geißeln agglutiniertes Bakterien Neues zu sehen, eventuell sogar dem Wesen der Agglutination näher treten zu können.

Ich wählte den Typhusbacillus, einerseits, weil die diesen Bacillus agglutinierenden Sera wegen der heute allgemein angewendeten Gruber-Widalschen Probe stets zur Verfügung stehen, andererseits, weil der Typhusbacillus fast immer geißeltragende Formen in der Kultur bildet und bei der Geißelfärbung fast immer gute Präparate liefert.

Nach verschiedenen Versuchen entschied ich mich dafür, die Sera in einer Verdünnung von 1 : 400 anzuwenden, und, um die Konfiguration der emulgierten Bakterien resp. Bakterienhäufchen nicht zu stören, die Emulsionen mittels einer kleinen Oese auf den Deckgläsern zu verstreichen. Ich zog zugleich auch die von Malvoz¹⁾ angegebene Erscheinung in Untersuchung, daß Saffranin und Vesuvin sowie Sublimat Typhusbacillen agglutinieren, und hatte nun zu prüfen, inwieweit die Bilder, welche mir die Färbung mit Silbernitrat²⁾ ergab, bei folgenden Mischungen verschieden seien: Typhusbacillen mit Brunnenwasser, Typhusbacillen mit Brunnenwasser und normalem Serum, Typhusbacillen mit Brunnenwasser und agglutinierendem Serum, Typhusbacillen mit Saffraninlösung, Vesuvinlösung und endlich Sublimatlösung.

Ich legte in die kleinere Hälfte einer Petri-Schale 6 Tropfen einer Emulsion von auf alkalischem Agar gewachsenen Typhusbacillen in Brunnenwasser nebeneinander. Dann legte ich unter diese Tropfenreihe mit der gleichen Oese eine zweite Tropfenreihe, bestehend aus 1 Tropfen Brunnenwasser, 1 Tropfen von einer Lösung von normalem Serum in Brunnenwasser im Verhältnis von 1 : 200 (1 ccm normales Serum mehr 200 ccm Brunnenwasser im Becherglase gemengt; das normale Serum gibt eine klare, das Immunsrum eine getrübbte Lösung), 1 Tropfen einer ebenso bereiteten Lösung von agglutinierendem Serum in Brunnenwasser, 1 Tropfen filtrierter 2-prom. Saffraninlösung, 1 Tropfen 1,2-prom. Vesuvinlösung und 1 Tropfen 0,7-prom. Sublimatlösung.

Die Serumlösungen wurden mit Brunnenwasser (Wiener Hochquelle) gemacht, da dieses einerseits zur Agglutination nötige Salze liefern konnte, andererseits destilliertes Wasser bekanntermaßen ein die Geißeln nicht unberührt lassender Stoff ist.

Dann vermengte ich je einen Tropfen der Typhusbacillenemulsion mit je einem der darunter liegenden eben erwähnten Tropfen gut mit einem ausgeglühten gekühlten Platindrahhaken, so daß ich nun in der Schale 6 breite Tropfen liegen hatte, welche die Emulsionen der Typhusbacillen in den nunmehr ungefähr auf die Hälfte der Konzentration gebrachten agglutinierenden Lösungen waren.

Um das Verdampfen der Flüssigkeiten zu hindern, deckte ich jetzt ein nasses Filter auf die untere Fläche der oberen Schalenhälfte, schloß die Schale durch Niederdrücken des Deckels auf das Filter und ließ die Sache 1—1½ Stunden im Thermostaten ruhig stehen.

Nach Ablauf dieser Zeit machte ich mittels einer ganz kleinen, immer nach dem Abbrennen im Wasser gut gekühlten Oese auf einem ganz reinen Deckglas nebeneinander je einen Aufstrich³⁾ von je einem dieser

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1897.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. p. 420.

3) Da die Färbungen trotz aller Vorsicht nicht immer auf jedem Deckglas, auch wenn sie vollkommen gleich gemacht wurden und gleich hintereinander vorgenommen wurden, absolut gleiche Resultate in Bezug auf die Intensität der Färbung ergeben, habe ich schon seit einiger Zeit bei Untersuchungen, welche Vergleiche verschiedener Kulturen betrafen, die verschiedenen Emulsionen nebeneinander auf ein Deckglas gestrichen und zugleich gefärbt. Ich nahm dazu große Deckgläser, deren eine oder mehrere Ecken abgeschrägt waren, strich hier nebeneinander unter Freilassung von einigen Millimeter breiten Streifen die verschiedenen Emulsionen nebeneinander und untereinander auf, so daß ich auf einem Deckglas bis 8 verschiedene Emulsionen, deren Ort durch die Eckenabschrägung und vorherige Notierung auf einem Notizblatt mir bekannt und sicher bestimmt war, zugleich und daher in vollkommen gleicher Weise färben konnte. Das Verfahren erspart viel Zeit und schützt doch ziemlich weitgehend vor Fehlschlüssen bei vergleichenden Arbeiten.

Tropfen, trocknete die Aufstriche nach dem Lufttrocknen noch durch vorsichtiges Auflegen auf einen kleinen Natriumacetatthermophor¹⁾ etwas nach, fixierte und färbte mit Silbernitrat in der mir gewohnten Weise.

Die Färbung ergab vor allem, daß weder der Aufenthalt im Wasser noch in den beiden Serumemulsionen weder die Geißeln des Typhusbacillus noch deren Körper irgendwie verändert hatte.

Die beigegebenen Photogramme (von Universitätslehrer für Photographie, Hugo Hinterberger, Wien) zeigen die Befunde.

Die Geißeln der nicht agglutinierten Typhusbacillen sind nach einer Richtung gestellt. Es zeigt dies meiner Ansicht nach, daß die Organismen nach einer Richtung schwammen oder geschwemmt wurden. Diese Bilder bekommt man beim Aufstrich mittels Oese durch einen geraden Strich, wo dann ein relativ großes Quantum Wasser auf das Deckglas kommt, welches langsam eintrocknet, so daß die Bacillen entweder dem entschwindenden Wasser nachschwimmen oder vom trocknenden Wasser in einer Richtung geschwemmt werden und während dieses Bewegungsprozesses an das Deckglas antrocknen. Die bekannten eigentlichen „Zöpfe“ habe ich bisher überhaupt nur selten sehen können. Die hier sichtbare Lage der Geißeln macht mir den Eindruck, nach der eben beschriebenen Weise zu stande zu kommen. Bei der Entstehung des „Zopfes“ muß noch irgend eine Rotation mitwirken.

Die in der Lösung von normalem Serum emulgierten Bakterien waren unverändert in Bezug auf Körper und Geißeln, sowie in Bezug auf ihre Anordnung; daß das Serum sich mitgefärbt hatte und daher der Grund, von welchem die gefärbten Bakterien sich abhoben, getont war, war ja zu erwarten.

Das folgende Bild agglutinerter Typhusbacillen zeigt etwas, was nicht besonders häufig sichtbar ist, nämlich einen reineren Hof um die Häufchen der agglutinierten Bacillen. Zwei agglutinierte Häufchen nebeneinander sind von je einer hellen Zone umgeben, welche von dem dunkeln Grunde der mitgefärbten Serumlösung umgeben ist. Einige Geißeln gehen in diesen Grund über und zeigen sich auch dort unverändert. Die Kapseln der Typhusbacillen sind hier nicht deutlich zu sehen. Diese sind sonst bei agglutinierten Formen oft deutlicher zu sehen als bei den in Wasser suspendierten. Es ist möglich, daß das auf einer Quellung beruht. Doch weiß ich erfahrungsgemäß, daß bei diesen Silberfärbungen, sowie der Grund nicht ganz klar ist (hier bildet ja zumeist den Grund des Bildes die Serumlösung, die ja mitgefärbt wurde), die Kapseln der Bakterien fast immer deutlicher hervortreten als bei ganz klaren Präparaten. Es dürfte sohin von einer Kapselquellung hier mindestens nicht mit Sicherheit zu reden sein. Auf die Hofbildung werde ich später noch zurückkommen. Ich halte sie für das richtigere Bild, als wenn das Häufchen im dunkeln Grunde liegt, obzwar es seltener sichtbar ist, denn bei den in nicht agglutinierendem Serum emulgierten Typhusbacillen habe ich diese Hofbildung bisher nicht gesehen, wenigstens nicht mit solcher Deutlichkeit und in solcher Ausdehnung. Das Entstehen dieser hellen Zone um die Häufchen der agglutinierten Typhusbacillen kann man auch zu Gesicht bekommen, wenn man in verdünnter Bouillon lebende Typhusbacillen agglutiniert und färbt. Die agglutinierten Bacillen liegen, wie das Bild zeigt, weit aus nicht so dicht aneinander, wie man etwa bei mangelhaft emulgierten

1) Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. u. mikrosk. Technik. Bd. XX. p. 14.

Kulturrasen sehen kann, sondern sie sind fast immer durch ziemlich breite Zwischenräume, welche durch die zahlreichen und unveränderten Geißeln ausgefüllt sind, getrennt.

Ein wesentlich anderes Bild zeigt die Agglutination durch Saffranin. Hier sieht man deutlich, daß den Geißeln etwas geschehen ist. Viele Geißeln sind abgerissen, zu kleinen Kreisen gerollt, die an den Bacillenkörpern noch hängenden Geißeln sind kurzweilig gebogen, stellenweise wie Korkzieher aussehend, auch winkelig wie geknickt, dabei im Bilde scharf hervortretend, vielleicht etwas verdickt. Die Geißeln machen oft den Eindruck, als wenn sie sich unter dem Einflusse einer ihnen schädlichen Substanz und von dieser Substanz imbibiert gegen den Bacillenkörper hin zusammengezogen hätten. Die Bacillenkörper selbst scheinen unverändert. Die Konzentration des Saffranins ist hier höher als Malvoz angegeben hat, nämlich 1:1000. Malvoz gibt 1:2000 an. Bei dieser letzteren Verdünnung ist die Beschädigung der Geißeln, besonders deren Abgerissensein von den Bacillenkörpern, weniger deutlich; dafür tritt die kurzweilige Form besser hervor. Der Grund des Bildes ist klar, das Saffranin selbst färbte sich also nicht mit. In der Emulsion war makroskopisch kein wesentliches Ausbleichen der Farbe zu sehen, also dürfte die Klarheit des Grundes nicht darauf zurückzuführen sein, daß durch die Typhusbacillen oder deren Produkte das Saffranin verändert wird.

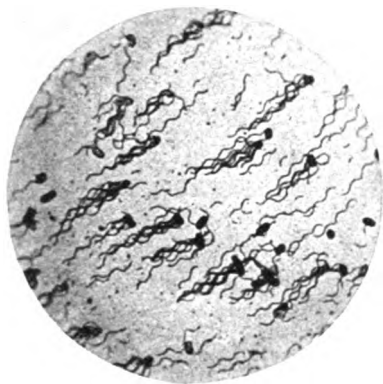
Vesuvium agglutiniert minder schön wie Saffranin, zeigt aber ähnlichen Befund, wenn auch viel weniger deutlich: Abgerissene Geißeln, unregelmäßig gebogene, oft geknickte Geißeln, Körper unverändert. Jedenfalls sind auch hier die Geißeln von dem neuen Medium, welches auf sie eingewirkt hat, beschädigt worden. Bei Vesuviumagglutination habe ich die einzelnen Körper auch zuweilen von einem schmalen Hofe umgeben gesehen, welcher an besonders günstigen Stellen den deutlichen Eindruck einer Kapselquellung machte.

Mit Sublimat agglutinierte Typhusbacillen zeigen zwar halbwegs zarte Geißeln, aber die Geißeln sind ebenfalls geknickt, unregelmäßig gebogen, oft abgerissen, auch verknäuelte oder entzwei gebrochen, also ähnlich verändert, wie die Geißeln der mit Saffranin oder Vesuvium agglutinierten Bacillen. Hier kann man auch bei einzelstehenden Individuen sehr deutliche Kapselquellungen sehen. Bei 10fach höherer Konzentration der Sublimatlösung liegen die Bacillen oft in dicken Schollen ganz eng beieinander, so daß man nur an den Rändern der Schollen die Geißelveränderungen sehen kann. Hier ist als interessanterer Befund eine solche „Scholle“ abgebildet.

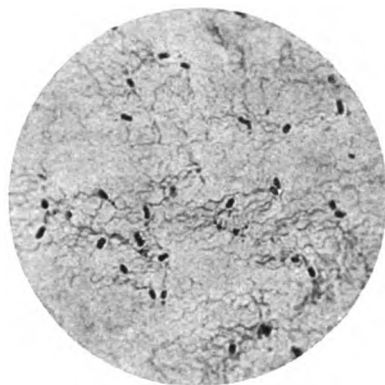
Diese Befunde beweisen die Richtigkeit des schon von Gruber und Durham sowie auch von Pfeiffer am Kongreß für innere Medizin 1896 kundgegebenen und durch den Nachweis, daß auch nicht geißeltragende Mikroorganismen einer Agglutination fähig sind, weiter gestützten Satzes, daß die Geißeln der Bakterien bei der Agglutination, und zwar bei der Agglutination durch Sera keine irgend nachweisbare besondere Mitwirkung haben.

Löwit¹⁾ schließt aus seinen mikroskopischen Befunden bei agglutinierten Bakterien, daß zwischen den infolge der stattgefundenen Agglutination in Häufchen gelagerten Bakterienkörpern eine homogene amorphe Substanz als Verbindung oder als Niederschlag bestehen müsse. Dieser

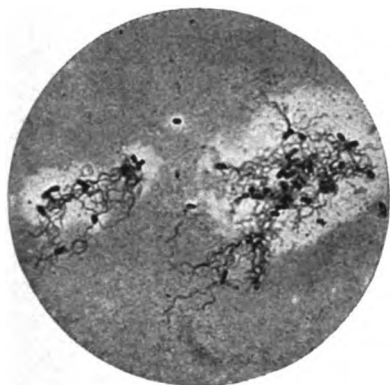
1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 158.



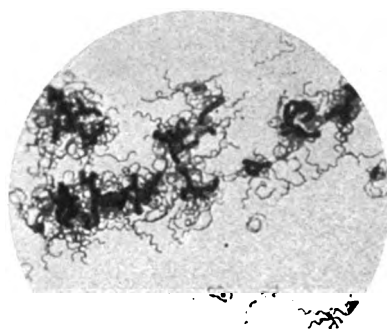
Typhusbacillen in Wasser emulgiert.
1:1000 linear.



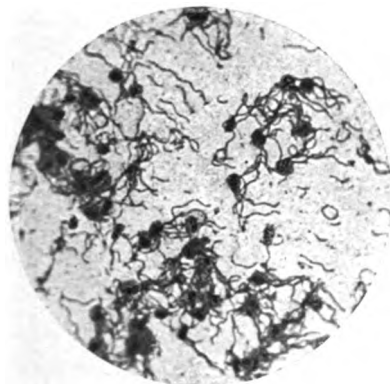
Typhusbacillen in in Wasser (1:400)
gelöstem Serum. 1:1000 linear.



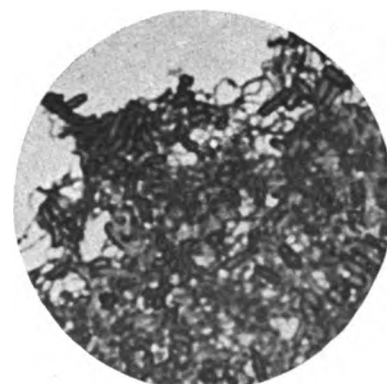
Typhusbacillen in in Wasser (1:400)
gelöstem agglutinierendem Serum.
1:1000 linear.



Typhusbacillen in Saffraninlösung
(1‰). 1:1000 linear.



Typhusbacillen in Vesuviumlösung
(0,5‰). 1:1000 linear.



Typhusbacillen in Sublimatlösung
(3,5‰). 1:2000 linear.

Niederschlag, welchen Löwit mit Nochtblau und Eosin färbte, dürfte nichts anderes gewesen sein, als die hier besser gefärbten Geißeln der agglutinierten Bakterien. Löwit gibt an, daß er in diesen homogenen gefärbten Massen ab und zu eine gewisse „Gitterung“ bemerkt habe. Es ist nicht unmöglich, daß diese „Gitterung“ gerade bei zufällig leichter färbbaren Präparaten zu sehen war und eine Vorstufe deutlich gefärbter Geißeln bildete.

Erwähnt habe ich schon die eigentümliche Erscheinung, daß zuweilen gerade die Stellen, wo man Häufchen agglutinierten Bakterien mit ihren Geißeln sieht, im Präparate auffallend klar erscheinen, wie wenn dort Bakterien in Wasser, nicht aber in einer Serumlösung emulgiert wären. Man hat den Eindruck, daß da aus dem Medium, in welchem die agglutinierten Bakterien suspendiert sind, die agglutinierten Bakterien Stoffe, welche sich mitfärben würden, hier also das agglutinierende Serum aus ihrer nächsten Umgebung entfernt hätten. Es ist klar, daß man sich da sofort an die Tatsache erinnern wird, daß eine agglutinierende Flüssigkeit durch das Vorsichgehen eines Agglutinationsvorganges ihrer Agglutinationsfähigkeit beraubt wird, und daß man die Klarheit dieser Stellen als das sichtbare Zeichen dieser Aenderung der Beschaffenheit eines agglutinierenden Mediums durch Eintritt der Agglutination betrachten kann.

Bordet¹⁾ in: „Mode d'action des sérums préventifs“ erklärt das Phänomen der Agglutination für eine rein physikalische Erscheinung. Durch das Immunserum soll die molekulare Attraktion zwischen den Mikroben und der umgebenden Flüssigkeit geändert werden, und diese Aenderung der molekularen Attraktion bedingt die Agglutination.

Ich glaube, daß die Befunde der hier fotografierten Präparate am ehesten noch der Hypothese Bordets entsprechen. Ich glaube auch, daß in agglutinierendem Serum und im Typhusbacillus einander entgegenwirkende Energien enthalten sind.

Die Erscheinung der Agglutination würde dann sich daraus erklären, daß die Typhusbacillen sich deshalb in Häufchen legen, weil sie nach der Seite im Raume der Emulsion, wo wieder ein Typhusbacillus liegt, weniger ihnen entgegengesetzt wirkende, weniger abstoßende Massen haben, als nach jeder anderen Seite und daher allmählich in Häufchen zusammentreten. Die Erscheinung der Immobilisation läßt sich aus diesen Befunden wohl auch nicht einmal in ähnlich vermutungsweiser Art erklären.

Nachdruck verboten.

A propos des procédés de Hesse et de Spengler, pour la culture du bacille de la tuberculose.

Par le Dr. Léon Jacqué,

Assistant à l'Institut de sérothérapie de Bruxelles.

W. Hesse²⁾ s'est efforcé de trouver une méthode permettant de démontrer que les bacilles de Koch se trouvent à l'état vivant dans les

1) Cit. R. Kraus, Zur Theorie der Agglutination, p. 370. (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. XXIII. 1902. Abt. f. inn. Med. p. 369.)

2) Hesse, W., Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXI. p. 502.

tissus ou les expectorations. Il ensemence à cet effet des crachats sur gélose additionnée de „Nährstoff Heyden“. Il est bien permis de considérer ce résultat comme atteint. Nous avons répété les expériences de Hesse et avons pu constater en fait une certaine multiplication des bacilles pendant les premières heures (6 à 10 h.) qui suivent l'ensemencement. Mais plus tard les plaques sont ordinairement envahies par le développement des germes étrangers et, dans tous les cas, les bacilles de la tuberculose disparaissent petit à petit complètement. Des recherches, non publiées, faites à l'institut d'hygiène de l'Université de Vienne par le Dr. Koegler, confirment absolument les nôtres.

Dans la suite Hesse¹⁾ préconisa l'emploi d'une gélose glycinée (additionnée de quantités croissantes d'une solution alcaline) qui empêcherait le développement des germes étrangers. Nous avons pu, ici aussi, nous rendre compte de la multiplication du bacille de Koch, mais il ne nous fut pas donné d'obtenir les colonies bien développées dont parle l'auteur. En effet, après 10 à 15 jours, les bacilles commencent à se colorer anormalement par la fuchsine (en violet ou en noir) pour disparaître complètement après 3 à 6 semaines. (Nous avons, dans un seul cas, trouvé de petites colonies de bacilles de la tuberculose sur des plaques de gélose glycinée alors que les préparations directes faites aux dépens des crachats avaient donné un résultat négatif: Mais ce n'est là, dans nos recherches, qu'un fait isolé.)

Spengler²⁾ publie une méthode de culture du bacille de la tuberculose aux dépens des crachats, basée sur l'action de la formaldéhyde, qui tueait les bactéries étrangères avant que le bacille de Koch ait perdu la faculté de se multiplier. Nous avons repris ces expériences, en suivant scrupuleusement toutes les indications de l'auteur; mais, ici encore, nous devons enregistrer un résultat négatif: Partout où les bactéries étrangères étaient détruites, il en était de même des bacilles de la tuberculose. — Dans les cultures où toutes les bactéries étrangères n'étaient pas détruites, nous ne pûmes d'ailleurs établir d'une façon indubitable (sauf dans un cas: voir plus loin), la multiplication ultérieure du bacille de Koch; mais, même en ce qui concerne cette exception, ces bacilles ne furent pas l'origine de colonies.

Dans quelques expériences nous avons modifié le procédé de Spengler, en ensemençant sur gélose glycinée de Hesse, mais sans obtenir des résultats plus satisfaisants.

Faisons remarquer que, dans la grande majorité des cas, nous avions affaire à des crachats très riches en bacilles de Koch.

À quelles causes faut-il rapporter ces succès? — Disons d'abord que s'il est hors de doute que la gélose glycinée de Hesse exerce une action empêchante considérable sur le développement d'un certain nombre de germes étrangers, il n'en est pas moins vrai que des moisissures et quelques saphytes y poussent parfaitement. Quant le matériel d'origine est souillé de moisissures, ce qui arrive très facilement, les cultures en sont envahies en peu de jours. — Mais laissons de côté, malgré son importance au point de vue pratique, cette cause d'insuccès, et recherchons le pourquoi de la disparition progressive du bacille de la

1) Hesse, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 50. p. 2100. — Voir aussi: Le même. Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXVII, et Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 384 et 386.

2) Spengler, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLII. p. 90.

tuberculose, alors qu'un envahissement des cultures par les bactéries étrangères ne se produit pas.

Eh! bien, c'est là un fait banal. — Déjà Kitasato¹⁾ avait observé, lors de ses essais de culture du bacille de Koch aux dépens des crachats, que dans les tubes où ne se développaient pas de bactéries étrangères, le dit bacille contenu dans le mucus ensemencé sur gélose ne devient pourtant pas, dans la plupart des cas, le point de départ de colonies. C'est le même fait que nous avons observé sur les plaques de gélose glycinée de Hesse. Il est dès lors très compréhensible que cette destruction se fasse à plus forte raison dans les cultures d'après Spengler, où la formaldéhyde encore est diminué la vitalité des bacilles de la tuberculose.

Spengler dit d'ailleurs lui-même (p. 91): „Es kommt häufig vor, daß die Tuberkelbacillen, welche sich innerhalb der ersten 8 Tage deutlich oder auch sehr stark angereichert hatten, in der 2. oder 3. Woche in den Sputummassen absterben und spurlos aus ihnen verschwinden.“

Spengler voit la cause de ces phénomènes dans la leucolyse. Comme il le rappelle, Kossel a établi l'action bactéricide des acides nucléiniques vis-à-vis du vibron du choléra, et Spengler lui-même a fait des observations analogues en ce qui concerne le bacille de Koch. Nous sommes très enclins à accepter l'intervention du même facteur dans nos expériences. En effet, les crachats employés par nous, présentaient toujours une réaction acide et étaient riches en leucocytes, sauf précisément dans un cas dont nous avons parlé plus haut (alinéa 2), où les crachats alcalins, qui avaient donné un résultat négatif à l'examen direct des préparations, produisirent quelques colonies tuberculeuses sur gélose glycinée; une autre fois, la réaction était amphotère, et, par le procédé Spengler, nous vîmes une multiplication intense des bacilles de Koch dans les cultures où les bactéries étrangères, elles non plus, n'étaient détruites, multiplication suivie toutefois de la disparition des bacilles. Ce cas constitue l'exception signalée (alinéa 3).

Spengler ajoute comme argument en faveur de l'action de l'acide nucléinique: „In Uebereinstimmung damit steht, daß man mit einem kernarmen oder kernfreien Sputum viel leichter Tuberkelbacillenkulturen erzieht...“ (p. 92). Il admet pourtant qu'il y ait des exceptions à cette règle. Il est regrettable que cet auteur ne renseigne pas le pourcentage des résultats négatifs obtenus par lui.

N'est-on pas en droit de s'étonner que Hesse ne nous renseigne pas sur la valeur de sa méthode en ce qui concerne les crachats à réaction acide? Il nous dit à divers endroits que les cultures réussissent d'autant mieux que l'alcalinité du milieu est plus voisine de celle des produits pathologiques en expérience; or, de nos recherches il ressort clairement que les expectorations de phtisiques sont fréquemment acides. — Ficker²⁾ dit d'ailleurs, dans un travail de l'année 1900: „Das tuberkulöse Sputum reagiert nicht selten ziemlich stark sauer.“ Et il ajoute: „In zwei Versuchsreihen wurden nun zwei verschiedene Sputa in der Weise verwendet, daß sie in ursprünglich saurem Zustande, dann nach völliger Neutralisation und endlich in ganz schwach alkalischer Reaktion zur Herstellung des oben beschriebenen Sputumagars dienten. In beiden Versuchsreihen ergab sich ganz eindeutig, daß das

1) Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XI. p. 443.

2) Ficker, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII.

Wachstum der Tuberkelbacillen in den schwach alkalischen und neutralen Nährböden erheblich ungünstiger blieb als in den sauren.“ — Le même auteur arrive à la conclusion que le développement du bacille de Koch est, d'une façon générale, notablement plus favorable sur milieux acides et amphotères que neutres ou alcalins. Il ressort de ces considérations que la question de la réaction la plus adéquate n'est pas aussi simple que Hesse semble l'admettre.

Il nous paraît que pour expliquer pourquoi les procédés si nombreux décrits par les auteurs n'ont pourtant pas été reconnus par la généralité des bactériologistes, il faille admettre que les crachats, qui présentent des propriétés très divergentes, notamment quant à leur réaction et à leur richesse en leucocytes, ne sont aptes à fournir des cultures de bacilles de Koch que lorsque le milieu de culture répond à des conditions adéquates jusqu'ici imparfaitement connues. En d'autres termes, aucun de ces procédés ne serait applicable à tous les cas qui se rencontrent dans la pratique des analyses.

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>Aujesky, Aladár, Beiträge zur Pathogenität der tuberkelbacillenähnlichen säurefesten Stäbchen, p. 415.</p> <p>Bail, Oskar, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Schluß.), p. 397.</p> <p>Bassenge, R. u. Mayer, Martin, Zur Toxingewinnung aus gefrorenen Typhusbacillen, p. 332.</p> <p>Cohn, Erich, Ein Beitrag zum Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen, p. 369.</p> <p>Feistmantel, Die Tuberkulinreaktion. (Schluß.), p. 406.</p> <p>Grimme, A., Einige Bemerkungen zu neueren Arbeiten über die Morphologie des Milzbrandbacillus, p. 352.</p> <p>Hinterberger, A., Färbungen agglutinierter Typhusbacillen mit Silbernitrat, p. 457.</p> <p>Jacqué, Léon, A propos des procédés de Hesse et de Spengler, pour la culture du bacille de la tuberculose, p. 461.</p> <p>Kister u. Schmidt, P., Zur Diagnose der Rattenpest, p. 454.</p> <p>Lewandowsky, Felix, Die Pseudodiphtheriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen, p. 336.</p> | <p>v. Linstow, Neue Helminthen aus Westafrika, p. 379.</p> <p>Firenne, Yvo, Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal. (Schluß.), p. 388.</p> <p>v. Rätz, Stefan, <i>Dibothriocephalus latus</i> im Hunde, p. 384.</p> <p>Rautenberg, E., Zur Bakteriologie der Ruhr, p. 368.</p> <p>Riecke, Hermann, Beiträge zur Frage der Arteinheit der Streptokokken, p. 321.</p> <p>Růžicka, Vladislav, Berichtigung zu dem Artikel des H. Dr. D. Ottolenghi: „Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus“ p. 354.</p> <p>Sanfelice, Francesco, Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix-(Actinomyces-)Arten, p. 355.</p> <p>Scheller, Robert, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine, p. 427.</p> <p>Stäubli, Carl, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten. Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen. (Schluß.), p. 441.</p> |
|---|---|

Nachdruck verboten.

Études bactériologiques.

Corynebacterium vaccinae. — Bacterium diphtheriae avium. — Bacterium candidus.

[Institut d'Hygiène expérimentale et de parasitologie de l'université de Lausanne.]

Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 6 figures.

1. **Corynebacterium vaccinae** B. Galli-Valerio.

La présence de bactéries du genre *Corynebacterium* L. et N. dans le contenu des pustules de variole et de vaccine a été déjà signalée par plusieurs observateurs. Ainsi, Besser¹⁾ en a trouvé dans un cas de variole; Klein²⁾ aussi dans des cas de variole (*B. xerosis variolae* et *B. albus variolae*); Neisser³⁾ dans une pustule de vaccine; Landmann dans du vaccin; De Simoni⁴⁾ dans des pustules de variole, et Sanfelice et Malato⁵⁾ dans des cas de variole et de vaccine.

En 1900 Nakanishi⁶⁾ a publié une longue étude sur une de ces bactéries qu'il avait isolée du vaccin et qu'il considérait comme l'agent spécifique de cette infection, sous le dénomination de *Bacillus variabilis lymphae vaccinalis*. Plus tard, cette bactérie a été de nouveau bien décrite par Levy et Fickler⁷⁾ comme *Corynebacterium lymphae vaccinalis*, mais sans lui attribuer le rôle spécifique dont parlait Nakanishi. Depuis lors, cette bactérie a été signalée par plusieurs autres observateurs⁸⁾ et elle semble assez fréquente non seulement en Europe mais aussi en Amérique.

Au cours de quelques recherches sur la pulpe vaccinale glycinée, obtenue à l'Institut vaccinogène de Lausanne par culture sur le veau, j'ai eu aussi l'occasion d'isoler un *Corynebacterium*, dont il me semble intéressant d'exposer les caractères des cultures, l'aspect morphologique et les résultats de quelques inoculations sur les animaux.

1) Agar en plaque à 37°. D'abord apparaissent de petites colonies blanchâtres, bombées, entourées d'une zone plus claire. A développement complet, elles présentent les bords festonnés, le centre comme un bouton proéminent. L'espace compris entre le centre et la périphérie est bosselé et crevassé. Ces colonies sont plutôt sèches. (Fig. 1.)

2) Agar par piqûre à 37°. Après 24 heures apparaît en surface une petite colonie de 1 mill. de diamètre, à bords festonnés, d'une coloration blanchâtre. En profondeur, il n'y a qu'une mince ligne granuleuse. Après 48 heures, la colonie de surface est plus grande et ressemble tout à fait aux colonies sur agar en plaque. Elle finit par

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. p. 590.

2) Ann. rep. of the med. off. of the loc. gov. board for the year 1896—97.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. p. 165.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. p. 294.

5) Ann. d'ig. sper 1903. T. XIII. p. 1.

6) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. p. 640.

7) Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 26.

8) Journal of american med. assoc. 1903. p. 439. — American assoc. of Path. and Bact. Washington. 1903. 13 May. — Journal of Path. and Bact. Dec. 1903.

envahir toute la surface de l'agar. Dans la profondeur, au contraire, le développement reste toujours le même.

3) Gélatine par piqûre à 20°. Après 24 heures; très léger développement en surface, d'aspect analogue à celui sur agar par piqûre, de la dimension d'une tête d'épingle. Il n'y a presque point de développement en profondeur. La culture reste toujours dans cet état, et la gélatine n'est jamais liquéfiée.

4) Pomme de terre à 37°. Ce n'est qu'après 48 heures qu'on remarque à la surface de la pomme de terre un léger développement sous forme d'une couche blanchâtre granuleuse et qui reste toujours dans le même état.

5) Carotte à 37°. Déjà après 24 heures on remarque un développement analogue à celui sur pomme de terre. La couche devient un peu plus épaisse.

6) Sérum de bœuf gélatinisé incliné à 37°. Après 24 heures. petites colonies blanches, de la dimension d'une tête d'épingle, disposées en série. Après quelques jours, elle se fondent ensemble à une ligne blanc-jaunâtre, dont les bords sont formés par de petites colonies rondes. Les vieilles cultures deviennent jaunes et présentent sur les bords des prolongements en forme de fines aiguilles.

7) Bouillon peptonisé à 37°. Après 24 heures, léger trouble du bouillon. Après 48 heures, voile blanc assez épais, en surface, flocons en suspension et léger dépôt au fond. Le voile persiste longtemps, puis il se dépose en lambeaux au fond et le bouillon s'éclaircit.

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

Cette bactérie donne la réaction de l'indol, et ne fait pas fermenter ni glycose ni lactose.

Si on pratique l'examen microscopique de toutes ces cultures, on trouve qu'elles sont formées par un bacille immobile, disposé en broussailles, présentant l'aspect de massues parfois bifurquées, ou en haltères. Avec la fuchsine et le bleu de méthylène, il se colore parfois uniformément, mais le plus souvent par places, de la sorte qu'il présente des espaces clairs alternés avec des espaces colorés. Dans les cultures fraîches sur sérum de bœuf gélatinisé, il se colore par le méthode de Neisser, présentant des grains sombres, analogues à ceux qu'on remarque dans *C. diphtheriae*, auquel, du reste il ressemble énormément. Il se colore par le Gram et ne résiste pas à la décoloration par les acides. Ses dimensions varient entre 2—4 μ .

L'aspect morphologique de cette bactérie présente certaines nuances dans les différents milieux de culture: Sur agar prédominent les formes en massue, qui dans le vieilles cultures, se présentent plus longues, à tige pointillée simulant un chapelet. La partie renflée se colore toujours bien. On remarque un aspect analogue dans les cultures en bouillon, dans le lait ou sur sérum de bœuf gélatinisé. Dans les vieilles cultures sur pomme de terre, on voit apparaître des formes très courtes, presque en coque. Sur carotte on trouve souvent des formes longues de 8 μ . Je n'ai jamais noté la formation de longs filaments ni de spores.

Un lapin et un *Mus decumanus*, inoculés sous la peau, chacun avec $\frac{1}{2}$ ccm d'une culture en bouillon, n'ont point présenté de troubles morbides. Un cobaye inoculé de la même façon et avec la même dose, a présenté, après 2 jours, une petite tuméfaction molle, rouge, au point inoculé. Au 4^e jour, cette tuméfaction avait la dimension d'un petit

pois. Ouverte, elle a donné issue à un peu de matériel puriforme, épais, visqueux, qui examiné au microscope se présentait formé par des globules de pus, parmi lesquels il y avait de nombreux bacilles en massue et en haltère se colorant surtout uniformément par la fuchsine (fig. 2). Aucun de ces bacilles n'était renfermé dans des phagocytes.

Les cultures de ce pus ont donné le bacille décrit, à l'état pur. Les colonies sur agar étaient plus plissées, plus sèches et, surtout les anciennes, présentaient des caractères très analogues à celles du genre *Mycobacterium*. Avec une culture en bouillon obtenue de ce cobaye, j'ai inoculé ($\frac{1}{2}$ ccm) deux cobayes, un lapin et un *Mus decumanus*, sous la peau de la cuisse, et une poule et un pigeon sous la muqueuse de la bouche. *Mus decumanus* seul a présenté au point inoculé une tuméfaction de la dimension d'une grosse tête d'épingle. Ouverte après 26 jours, elle a donné du pus visqueux, avec de rares formes en massue, se colorant fort mal. Des cultures faites avec ce pus, sont restées stériles.

Je me suis gargarisé avec une culture en bouillon de 24 heures, mélangée à l'eau, et je n'ai présenté aucun trouble morbide.

La bactérie que je viens de décrire, entre sans aucun doute dans le genre *Corynebacterium*, et se rapproche beaucoup de *C. pseudodiphtheriticum*. Elle est certainement identique aux *Corynebacteriums* décrits par les autres observateurs dans la vaccine et peut être à ceux observés dans la variole. Je proposerais de réunir, pour le moment, ces 2 groupes de bactéries, sous les dénominations de *C. vaccinae* et de *C. variolae*. Ces bactéries, qui ne jouent certainement aucun rôle ni dans la variole ni dans la vaccine, sont intéressantes à cause de leurs caractères qui les rapprochent de *C. diphtheriae*. Celle que j'ai étudiée en diffère par ses cultures plus abondantes, plus épaisses, surtout si on compare des cultures sur sérum de bœuf gélatinisé; par son pouvoir pathogène faible ou nul; tandis qu'elle est presque identique au point de vue morphologique. La présence de ce bacille dans la pulpe vaccinale glycinée, ne peut pas entraîner des dangers pour les personnes à vacciner, vu que dans les pulpes âgées de quelques semaines, s'il y existe, il n'est pas pathogène. Mais le fait que Howard et Weir¹⁾ ont constaté en Amérique, une action pathogène de ce bacille pour les animaux, doit nous faire toujours plus déconseiller dans la vaccination, l'emploi des pulpes glycinées fraîches et surtout la détestable méthode de la vaccination directe de veau à bras, telle qu'on la pratique encore dans certaines villes françaises.

2. *Bacterium diphtheriae avium* Flügge.

J'ai isolé ce bacille dans quelques cas de diphtérie à marche chronique des poules, à Lausanne. Ces animaux présentaient sur la surface de la langue, à la partie interne de joues, et dans le pharynx, des plaques jaunâtres, molles, fendillées qui, enlevées, laissaient en dessous une surface saignante. Chez quelques poules, des fausses membranes analogues existaient sur la conjonctive palpébrale. A l'examen microscopique on n'y trouvait point de *Cercomonas gallinae*, qu'on rencontre si fréquemment dans certaines angines à fausses membranes des poules. On y observait, au contraire, de nombreux filaments de *Leptothrix*, des amas de *Staphylocoques* et de nombreux petits bâtonnets de

1) American assoc. of pathol. and Bact. Washington 1903. May 13.

1,2—2 μ , à peine mobiles, à extrémités arrondies, parfois légèrement courbés, parfois à centre légèrement rétréci. Ils se coloraient uniformément par la fuchsine et le bleu de méthylène, ne se coloraient pas par la méthode de Gram. Ces bâtonnets étaient à l'état pur dans les couches profondes des fausses membranes, en contact avec la muqueuse, de la sorte qu'en y puisant le matériel de culture, on pouvait obtenir d'emblée des cultures pures. Ces cultures présentaient les caractères suivants :

Agar en plaque à 37°: Après 48 heures, colonies petites, rondes, blanc-bleuâtre, à contour net, à centre un peu plus sombre que la périphérie. Elles ont peu de tendance à s'étendre.

Agar incliné à 37°: Après 48 heures, colonies de 1 mill. de diamètre, avec les mêmes caractères que sur plaques d'agar. L'eau de condensation est trouble, avec une légère pellicule blanchâtre en surface. Après 4 jours, les colonies apparaissent plus étalées, cirieuses, à bords un peu festonnés, mais avec peu de tendance à se fondre entre elles.

Agar par piqûre à 37°: Après 24—48 heures on remarque en surface une colonie avec les caractères susindiqués, et en profondeur une mince ligne blanchâtre festonnée. Après 3—4 jours, la surface de l'agar est complètement couverte par la culture. En profondeur, le développement ne progresse pas.

Gélatine par piqûre à 20°: Ce n'est qu'au 3^e jour qu'on remarque, en surface, une petite plaque blanc-bleuâtre, de $\frac{1}{2}$ mill. de diamètre, et un très léger développement le long de la piqûre. Plus tard, la plaque de surface s'élargit, et en profondeur on remarque une trainée blanchâtre aplatie.

Pomme de terre à 37°: Point de développement visible.

Carotte à 37°: Point de développement visible.

Sérum de bœuf gélatinisé incliné, à 37°: Petites colonies rondes, blanc-bleuâtre.

Bouillon peptonisé à 37°: Après 24 heures, le bouillon est uniformément trouble, sans voile et sans dépôt. Petit à petit se forme un précipité blanchâtre, et le bouillon reste limpide.

Lait à 37°: Léger développement, sans coagulation.

Ce bacille ne donne point de réaction de l'indol et fait fermenter faiblement le lactose. Dans les différents milieux de culture, cette bactérie présente quelques modifications dans ses caractères morphologiques. Tandis qu'en agar et sérum de bœuf gélatinisé on voit les formes typiques (fig. 3) et seulement dans les vieilles cultures on voit apparaître des formes ovoïdes; sur carotte et pomme de terre, on voit à côté des formes ordinaires, des formes légèrement allongées en filament, renflées en massue, courbées, et dans les vieilles cultures quelques formes en coque. Dans le lait, les bactéries sont un peu plus minces que dans les autres milieux; dans le bouillon on trouve des chaînettes de 3—4 éléments. Mais c'est en gélatine qu'apparaissent des formes extrêmement curieuses: Ici, à côté des formes typiques, on voit apparaître des filaments entortillés de 8—10—20 μ ; des filaments en tire bouchon, des filaments légèrement renflés en massue, des formes en virgule, rappelant tout à fait des vibrions. Dans les vieilles cultures, les formes renflées en massue augmentent et tandis qu'on observe des fausses ramifications, on ne remarque jamais de ramifications véritables (fig. 4). Dans aucune de ces cultures, je n'ai remarqué la formation de spores

Des cultures fraîches sur agar, colorées par la méthode de De Rossi, montrent que ce bacille est pourvu de 1—2 cils courts, et placés aux extrémités (fig. 5).

Avec quelques gouttes d'une culture en bouillon, j'ai inoculé sous la muqueuse de la lèvre un lapin et un cobaye, sous la muqueuse de la bouche une poule et sous la conjonctive palpébrale un pigeon. Ces animaux ont présenté, après 24 heures, une légère tuméfaction rougeâtre

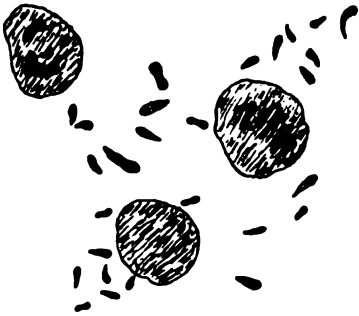


Fig. 2.



Fig. 1.



Fig. 4.



Fig. 3.



Fig. 5.



Fig. 6.

Fig. 2. 3. 4 et 6 avec ocul. 4. ob. im. hom. Tube 16 chambre claire.
Fig. 5 avec ocul. comp. 8. ob. im. hom. Tube 16 chambre claire.

au point inoculé. Après 4 jours, excepté chez le pigeon, s'y est formé une petite ulcération, couverte par une mince plaque blanchâtre, mais tous ont guéri. La poule a présenté pendant quelque temps une forme de torpeur.

Une souris grise, inoculée avec $\frac{2}{10}$ de ccm d'une culture en bouillon sous la peau de la cuisse, n'a présenté qu'une légère tuméfaction au point inoculé.

Le bacille que je viens de décrire, se rattache à *B. diphtheriae avium* et à *B. diphtheriae columbarum*, tels qu'ils ont été

décrits par Loir et Ducloux¹⁾, Veranus Moore²⁾, Galli-Valerio³⁾, Guérin⁴⁾, Loeffler⁵⁾, Petri⁶⁾, Babes et Puscariu⁷⁾. Les descriptions de tous ces observateurs diffèrent entre elles sur quelques points relatifs aux caractères des cultures, à la virulence, à la morphologie. Mais si on examine de près ces travaux, il semble bien qu'on se trouve en présence d'un microorganisme unique, doué d'une certaine variabilité de caractères. Ainsi, par exemple, tandis que Loeffler considère son bacille comme immobile, Petri lui attribue la mobilité; tandis que Loir et Ducloux ont vu leur bacille donner des cultures abondantes blanc-jaunâtre sur pomme de terre, Guérin avec ce même bacille n'a pas eu de développement sur ce milieu et moi je n'ai point eu de développement visible, mais en raclant la surface de la pomme de terre j'ai pu constater qu'il s'y était développé. Quant à sa virulence, elle est extrêmement variable, de la sorte que les résultats obtenus par les différents expérimentateurs varient énormément. Il faut admettre que dans les conditions naturelles, les associations avec d'autres bactéries et dans plusieurs cas avec *Cercomonas gallinae*, doivent faciliter le rôle pathogène de cette bactérie. Suivant moi donc, *B. diphtheriae avium* et *B. diphtheriae columbarum* devraient être réunis sous une unique dénomination: celle de *B. diphtheriae avium*, quitte à y distinguer des variétés. Ce point de vue me semble aussi être accepté par Guérin, et la forme que je viens de décrire, qui présente un aspect si variable au point de vue morphologique, cultivée en gélatine à 20°, est un nouveau fait à l'appui de la variabilité de ce microbe et à la faveur de la réunion en une seule espèce des bactéries de la diphtérie des poules et de la diphtérie des pigeons.

Il est intéressant de noter que ce bacille s'est montré très sensible à l'action du jus de citron, de la sorte que les poules malades traitées par des badigeonnages répétés de cette substance, ont presque toutes guéri, chose que j'avais déjà eu l'occasion de noter autrefois en Italie.

3. *Bacterium candidus* Galli-Valerio.

J'ai isolé cette bactérie chez une malade du service de M. le Prof. Dind (Lausanne), malade qui présentait à la jambe une éruption caractérisée par de petites vésicules blanchâtres, de la dimension d'une tête d'épingle, entourées d'une zone rouge enflammée. Dans le liquide louche de ces vésicules, on trouvait, entre les globules de pus, de petits bâtonnets, à extrémités arrondies, colorés uniformément par la fuchsine. Cette bactérie s'est développée sur les différents milieux de culture, avec les caractères suivants:

Agar en plaque à 37°: Après 6 heures colonies rondes, à contours nets, légèrement bombées au centre, du diamètre de 1—2 mill.; d'une coloration blanc-luisante. Après plusieurs jours, plusieurs de ces colonies se fondent entre elles en une couche blanc-luisante.

Agar par piqûre à 37°: La surface de l'agar se couvre d'une plaque ronde, à contours réguliers, légèrement bombée au centre, et

1) Ann. Pasteur. 1894. p. 599.

2) U. S. Dep. of Agric. Bull. VIII. 1895. p. 39.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. 1897. p. 500.

4) Ann. Pasteur. 1901. p. 941.

5) Mitteil. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. II. 1884.

6) Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. I. p. 6.

7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 376.

d'une couleur blanc-luisant. Dans la profondeur il se forme une ligne blanchâtre à bords festonnés.

Gélatine par piqûre à 20°: Après quelques jours se forme en surface une colonie blanc-luisante de 1 mill. de diamètre, et en profondeur une mince trainée. La colonie de surface devient plus grande, tandis qu'en profondeur il n'y a pas de développement ultérieur. Seulement après 22 jours environ la gélatine se liquéfie lentement en godet.

Carotte à 37°: Couche blanc-luisante, qui couvre toute la surface de la carotte.

Pomme de terre à 37°: Mêmes caractères que sur carotte, mais la couche est plus épaisse, et dans les vieilles cultures, elle prend une coloration grisâtre.

Bouillon peptonisé à 37°: Après 24 heures, le bouillon est troublé et à la surface commence à se former une pellicule blanche qui est complète, épaisse, après 24 h. Ensuite elle se dépose au fond et le bouillon s'éclaircit.

Lait à 37°: Bon développement. Après 5 jours le lait est complètement coagulé, mais le coagulum est mou, visqueux, et avec l'aiguille de platine on peut l'étirer en filaments. Petit à petit ce coagulum se tasse au fond et se redissout. Reste un liquide touché à réaction fortement alcaline. Toutes les cultures sont très visqueuses et s'étirent en filaments, quand on veut en prendre avec l'aiguille de platine. Point de réaction de l'indol et pas de fermentation du lactose.

Dans les différents milieux de culture, cette bactérie se présente immobile, se colore uniformément par le bleu de méthylène et par la fuchsine et faiblement par le Gram.

Les caractères morphologiques sont les suivants:

En agar: Bâtonnets droits ou légèrement courbés à bouts arrondis de 2 μ , disposés en amas parallèlement ou isolés (fig. 6); en bouillon beaucoup de formes courbées; dans le lait, formes plus trapues et souvent plus colorées aux extrémités qu'au centre; sur carotte et sur pomme de terre, on trouve plusieurs formes de 3—4 μ , légèrement renflées en massue à une extrémité.

Dans aucun milieu de culture, cette bactérie ne donne des spores.

Des inoculations sous-cutanées pratiquées sur le lapin, le cobaye, la souris, l'homme, sont restées sans résultat; de même que des inoculations dans les muscles pectoraux de la poule et du pigeon.

Le bacille que je viens de décrire, n'avait, suivant moi, rien à faire avec la dans lésion laquelle je l'ai trouvé. Il s'agissait très probablement, d'un simple saprophyte, qui avait trouvé dans le contenu des vésicules un milieu favorable à sa multiplication. Il se rapproche de *B. albicans pateriformis* d'Unna et Tommasoli¹⁾ mais uniquement par l'aspect blanc-luisant des cultures sur agar.

Lausanne, 25. Février 1904.

1) *Monatsschr. f. prakt. Dermatol.* Bd. IX. p. 58.

Nachdruck verboten.

Die Pseudodiphtheriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg.]

Von Dr. **Felix Lewandowsky,**

früher Assistent am Institut, zur Zeit Volontärassistent an der Hautklinik der Universität Bern.

(Schluß.)

Die Gruppe der Corynebakterien würde also folgende Unterarten aufweisen:

1) *Corynebacterium commune* (*B. pseudodiphtheriticus* von Loeffler und v. Hofmann-Wellenhof.) Fundort: Rachen- und Nasenhöhle sehr vieler gesunder und kranker Individuen, seltener Conjunctiva, auf der äußeren Haut und der männlichen und weiblichen Genitalschleimhaut. Unbewegliche Stäbchen von 2—4 μ Länge und $\frac{1}{2}$ —1 μ Breite, zuweilen besonders in älteren Kulturen Keulen-, Hantel- und Keilform. Färbbar mit allen Anilinfarben, Gram +; in jungen Kulturen meist gleichmäßige Färbung, in älteren häufig ungefärbte Lücken. Babes-Ernstsche Körper werden frühestens nach 24 Stunden gebildet, sie sind unregelmäßig, kreisrund und überschreiten nie den Breitendurchmesser des Bacillus. Die Bacillen sind häufig einander parallel, häufig aber auch ohne regelmäßige Anordnung gelagert. Temperaturoptimum 30—37°, Maximum 40°, Minimum 12°, Wachstum aërob, anaërob sehr kümmerlich. Gelatineplatte kleine weiße Kolonien, Gelatinestich Wachstum längs des Stiches in Form einzelner kleiner Kolonien und gutes Oberflächenwachstum. Keine Verflüssigung. Auf Löffler-Serum weiße oder ältere, gelbliche Kolonien von feuchtem Glanz und zerfließender Konsistenz. Auf Agarstrich dicke, saftige, weiße Leiste von feuchtem Glanz, Neigung zur seitlichen Ausbreitung, Ränder leicht gekerbt. Agarstich geringes Wachstum längs des Stiches, üppiges Oberflächenwachstum, nach 3—4 Tagen dicke weiße Scheibe auf der Oberfläche. Bouillon stark getrübt, massiger, weißer Bodensatz. Reaktion nie sauer, meist deutlich alkalisch. Ei, Milch und Kartoffel spärliches, wenig charakteristisches Wachstum. Pathogenität sehr gering, ruft höchstens lokale Infiltrate hervor; auch Injektion größerer Mengen ist für Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Mäuse unschädlich; Kulturfiltrate ohne jede Wirkung.

2) *Corynebacterium diphtheriae* (*B. diphtheriae* von Löffler). F.O. Diphtheritische Membranen und Lokalaaffektion, Rachenhöhle solcher Personen, die mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen sind. Schlanker als der vorige; Verhältnis von Länge zur Breite selten unter 5:1. Babes-Ernstsche Körper werden in großer Anzahl schon in den ersten 24 Stunden gebildet; sie sind regelmäßig, oval, über den Breitendurchmesser des Bacillus hinausragend. Lagerung bei Serumplattenkultur typisch, „wie wenn die gespreizten Finger der einen Hand in den verschiedenen Kombinationen über und unter die der anderen Hand gelagert wären“. Temperaturoptimum 37°, Maximum 40°, Minimum 18°. Wächst anärob kümmerlich, aber besser als der vorige. Elektiver Nährboden Löfflersches Blutserum, graugelbliche, mattglänzende, knöpfchenartige Kolonien. Auf Gelatine kümmerliches Wachs-

tum, kleine, weiße, runde Kolonien. Bouillon feine Flocken, oft Oberflächenhäutchen, Flüssigkeit schwach diffus getrübt oder klar. Säuerung der Bouillon. Auf Agar Wachstum in einzelnen nicht konfluierenden, durchsichtigen, grauen Kolonien. Pathogen für Menschen, Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Hunde, junge Tauben. Bildung löslicher Toxine. Doch sind die beiden letzten Eigenschaften in ihrer Intensität sehr schwankend und können völlig fehlen.

3) *Corynebacterium conjunctivae* (B. xerosis v. Reymond-Coloniatti, Kuschbert und Neisser), dem vorigen sehr ähnlich, wächst auf Serum und Agar langsamer und in kleineren, trockeneren Kolonien, auf Gelatine meist überhaupt nicht. Bouillon wird nie getrübt, bleibt meist neutral oder wird schwach sauer, aber nicht so stark wie beim vorigen. Temperaturminimum 22°. Babes-Ernstsche Körperchen nie vor 24 Stunden. Im Tierexperiment keine Pathogenität, außer Bildung geringer, lokaler Infiltrate. Der Beweis, daß er der Erreger verschiedener Augenerkrankungen des Menschen ist, ist nicht erbracht. Jedenfalls findet er sich auf der Conjunctiva der meisten gesunden Personen. Fraglich ist ferner noch die Existenz einer weiteren Unterart.

3a) *Corynebacterium septatum* (Gelpke).

4) *Corynebacterium pyogenes* (E. Levy und Fickler). F.O. Vaccinlymphe von der Größe des *Corynebact. commune*, aber von schlanker Form. Babes-Ernstsche Körperchen wie bei dem vorigen. Gelatine kümmerliches Wachstum in Gestalt einzeln stehender winziger Kolonien. Auf Agar leicht erhabener, trockener Rasen mit ausgebuchteten Rändern. Löfflersches Serum, bester Nährboden, dicker Belag von rauher, trockener Oberfläche und gewelltem Rand. Eine Varietät bildet auf Löffler-Serum orangegelegten Farbstoff, Bouillon anfangs getrübt, hellt sich später unter Bildung eines Bodensatzes auf. Pathogen für Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen; vermag Abscesse zu erzeugen, in denen es in Reinkulturgefunden wird. Filtrate ohne jede Wirkung.

Literatur.

- 1) Aaser, P., Den bakteriologiske diagnose ved difteri. (Tidskrift for den norske Laegeforening. 1897. Ref. Baumgarten. 1897. p. 322.)
- 2) Abel, R., Der Diphtheriebacillus unter besonderer Berücksichtigung seiner Bedeutung für die Praxis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. p. 290.)
- 3) Abbot, A. C., The relations of the Pseudo-Diphtheritis-Bacillus to the Diphtheritis-Bacillus. (Bull. of the Johns Hopkins Hospital. Vol. II. 1891. No. 15.)
- 4) — —, Further studies upon the relations u. s. w. (Bull. of Johns Hopkins Hospital. Vol. II. 1891. No. 17. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. p. 797.)
- 5) Andrewes, J. W., The pathological distribution of the diphtheria and the bacteriological diagnosis of diphtheria. (Brit. med. Journ. Vol. II. 1900. p. 907.)
- 6) Auckenthaler, Beitrag zur Diagnose des Diphtheriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 641.)
- 7) Axenfeld, Th., Wie weit sind die sogenannten Xerosebacillen der Conjunctiva mit den Hofmann-Löfflerschen Pseudodiphtheriebacillen des Rachens identisch? (Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 9. p. 188.)
- 8) — —, Nochmals das Verhalten der sogenannten Xerosebacillen u. s. w. Entgegnung an Herrn Dr. Schanz. (Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 24. p. 542.)
- 9) — —, Referat über die infektiösen Augenerkrankungen in Lubarsch-Ostertag: Ergebnisse d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Ergänzungsbd. Jahrg. VI. 1899.)
- 10) — —, Zu dem Aufsatz von Schanz „Zu Behrings neuester Diphtherietheorie“. (Münch. med. Wochenschr. 1902. p. 581.)
- 11) Babes, V., Ueber isoliert färbbare Anteile von Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 173.)

- 12) Baginsky, A., Diphtherie und diphtheritischer Krup. (Spez. Pathol. u. Therap. Bd. II. I. Teil. p. 63—91, herausgeg. v. Nothnagel. Wien 1898.)
- 13) Baumgarten, P., Untersuchungen über die Aetiologie und Pathogenese der diphtheritischen Membranen. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. p. 665.)
- 14) Beck, M., Bakteriologische Untersuchungen über die Aetiologie der menschlichen Diphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 434.)
- 15) — —, in Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. p. 823.
- 16) Behring, E. v., Die Diphtherie. (Bibliothek v. Coler. Bd. II. Berlin 1901.)
- 17) Belfanti u. Della Vedova, Archiv. Ital. di Otologia e Rinologia, zit. nach de Simoni. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. p. 673.)
- 18) Bergey, D. H., Comparative studies upon the pseudodiphtheritic or Hofmann-Bacillus, the Xerosis-Bacillus and the Loeffler-Bacillus. (Publicat. of the University of Pennsylvania. New Series. No 4. 1898.)
- 19) Bernheim, J., Ueber die Mischinfektion bei Diphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894. p. 529.)
- 20) Besser, L., Ein noch nicht beschriebener Bacillus bei Variola vera. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. 1893. p. 590.)
- 21) Bezold, Keratomalacie nach Morbillen. (Berl. klin. Wochenschr. 1874. p. 408.)
- 22) Biggs, H., Park, W. u. Beebe, A., Report on bacteriological investigations of diphtheria from May 4, 1893 to May 4, 1894. Health Department, City of New York.
- 23) Bornstein, Der gegenwärtige Stand der Frage von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillus. (Russ. Arch. f. Pathol. Bd. XI. 1901.) [Russisch.]
- 24) Braunschweig, P., Zur Kenntnis der infantilen Xerosis conjunctivae. (Fortschritte d. Med. 1890. No. 23.)
- 25) Bronstein, J., Zur bakteriologischen Diphtheriediagnose. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. p. 141.)
- 26) — — u. Grünblatt, S. N., Zur Frage über Differenzierung der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 425.)
- 27) Brunner, C., Ueber Wunddiphtheritis. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 515, 547, 573.)
- 28) Bujwid, O., Diphtheriebacillen in einem Harnsediment. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. No. 10. p. 394.)
- 29) Campbell Mc Clare, Ueber einen in der Milch gefundenen Bacillus. (Dtsch. med. Wochenschr. 1898. No. 26.)
- 30) Cesaris-Demel, A., Ueber das verschiedene Verhalten einiger Mikroorganismen in einem gefärbten Nährmittel. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899. p. 529.)
- 31) Chatin, P. u. Lesieur, Ch., De la présence du bacille de Loeffler et du bacille pseudodiphthérique chez les enfants hospitalisés. (Revue d'Hygiène. T. XXII. 1901.)
- 32) Cobbet, L., Alkaliniertes Rinder- und Pferdeserum als Hilfsmittel bei der Diphtheriediagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 395.)
- 33) — —, Observations on the recurrence of diphtheria in Cambridge in the spring of 1901. (Journ. of Hyg. Vol. I. 1901. p. 485.)
- 34) Cobbet, L. and Phillips, G. C., The pseudodiphtheria-bacillus. (Journ. of Pathol. Vol. IV. 1897. p. 193.)
- 35) Concetti e Memmo, Sulla tossicità del bacillo di Loeffler in rapporto alla sua morfologia. (Annali d'Igiene sperim. Vol. VIII. Fasc. 1. Ref Baumgarten. 1898. p. 303.)
- 36) Coppez, H., Etude sur la diphthérie oculaire. (Arch. d'ophtalmologie. T. XIX. 1897. No. 10. p. 565.)
- 37) Councilman, W. T., The pathology and diagnosis of diphtheria. (Amer. Journ. of the med. Science. Vol. CVI. 1893. No. 5. p. 540.)
- 38) Cronch, H. C., The detection of diphtheria-bacillus by its peculiar reaction towards certain stains. (New York med. Journ. 1895. No. 14.)
- 39) Cuénod, Bactériologie clinique de la conjunctive. (Gazette des Hôpitaux. 1894. p. 990.)
- 40) Czaplowski, E., Die ätiologische Bedeutung des Loeffler-Bacillus. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 4. p. 55. No. 6. p. 90.)
- 41) Dalén, A., Ueber die Bakteriologie der Conjunctivitis. (Mitteil. aus d. Stockholm. Augenklin. 1901. Jena, G. Fischer.)
- 42) Davis, L. D., A bacillus resembling the diphtheria-bacillus in all cultural characteristics but not producing diphtheria toxin. (New York med. News. Vol. LXXIV. 1899. p. 520.)
- 43) Deutschmann, R., Ueber Pemphigus conjunctivae und essentielle Bindehautschrumpfung. (Beitr. z. Augenheilk., herausgeg. v. Deutschmann. 1891. Heft 2. p. 39.)

- 44) Deyl, J., Ueber spezifische Bacillen des Chalazion. (Internat. klin. Rundsch. 1893. 14/15.)
- 45) —, Některých Zanětch Víček Očních: Akne, Hordeolum, Ekzem, Chalazion. Mitteil. der böhm. Kais. Franz Jos. Akad. Prag 1893. Ref. Baumg. 1893. p. 316. (Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. p. 404.)
- 46) Dolczyniecki, A. R. v., Zwei chromogene Mikroorganismen der Mundhöhle. (Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. 1897. p. 833.)
- 47) Dötsch, A., Anatomische und bakteriologische Untersuchungen über infantile Xerose und Keratomalacie. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. XLIX. 1899. p. 405.)
- 48) Draër, A., Die bakteriologische und klinische Diagnose der Diphtherie. (Dtsche med. Wochenschr. 1896. p. 279.)
- 49) Dudzinski, Bakteriologische Untersuchungen des Bindehautsackes beim Trachom. (Verhandl. d. 9. Versamml. poln. Naturf. u. Aerzt. Krakau 1900. Ref. Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. p. 217.)
- 50) Ehret, H., Ueber Symbiose bei diabetischer Lungentuberkulose. (Münch. med. Wochenschr. 1897. p. 1495.)
- 51) Ernst, P., Ueber den Bacillus xerosis und seine Sporenbildung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888. p. 25.)
- 52) —, Ueber Kern- und Sporenbildung in Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 428.)
- 53) Escherich, Th., Aetiologie und Pathogenese der epidemischen Diphtherie. I. Der Diphtheriebacillus. Wien (Alfred Hölder) 1894.
- 54) —, Zur Aetiologie der Diphtherie. (Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 8.)
- 55) —, Zur Frage des Pseudodiphtheriebacillus und der diagnostischen Bedeutung des Loefflerschen Bacillus. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 492.)
- 56) Eyre, J., On the xerosis bacillus. (Journ. of pathol. Vol. IV. 1897. p. 54.)
—, The xerosis bacillus. (The Lancet. 1895.)
- 57) Fibiger, J., Ueber Bekämpfung der Diphtherieepidemien durch Isolierung der Individuen mit Diphtheriebacillen im Schlunde. (Berlin. klin. Wochenschr. 1897. p. 753.)
- 58) Fick, E., Ueber Mikroorganismen im Konjunktivalsack. Wiesbaden (Bergmann) 1887.
- 59) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. p. 53. Jena (G. Fischer) 1903.
- 60) Foote, C. J., Bacteriology of the normal conjunctiva. (New York med. Record. Vol. XLIX. 1896. p. 765.)
- 61) Fraenkel, C., Ueber das Vorkommen der Loefflerschen Diphtheriebacillen. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 252.)
- 62) —, Zur Unterscheidung der echten und der falschen Diphtheriebacillen. (Hyg. Rundsch. 1896. No. 20. p. 977.)
- 63) —, Die Unterscheidung der echten und der falschen Diphtheriebacillen. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. p. 1087.)
- 64) —, Die Bekämpfung der Diphtherie. [Referat.] (Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXIX. 1897. p. 97.)
- 65) Fraenkel, E. u. Franke, E., Ueber den Xerosebacillus und seine ätiologische Bedeutung. (Arch. f. Augenheilk. Bd. XVII. 1887. p. 176.)
- 66) Franke, E., Xerose-, Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillus. (Münch. med. Wochenschr. 1898. p. 487.)
- 67) —, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. F. Schanz „Ueber die Pathogenität des Loefflerschen Bacillus“. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. p. 522.)
- 68) Freymuth u. Petruschky, Ein Fall von Vulvitis gangraenosa mit Diphtheriebacillenbefund. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. p. 232.)
- 69) —, Zweiter Fall von Diphtherie-Noma — Noma faciei. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. p. 600.)
- 70) Fuchs, E., Lehrbuch der Augenheilkunde. 8. Aufl. p. 137 Leipzig u. Wien (F. Deuticke) 1899.
- 71) Gabritschewsky, G., Zur Prophylaxe der Diphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901. p. 48.)
- 72) Gelpeke, Th., Der akute Schwellungskatarrh und sein Erreger. (Arch. f. Ophth. Abt. I. Bd. XLII. 1898. p. 97.)
- 73) —, Bacterium septatum und dessen Beziehungen z. Gruppe der Diphtheriebacillen. (Arbeiten aus d. bakteriol. Institut zu Karlsruhe. 1899. Bd. II. Heft 2. p. 73.)
- 74) Gerber, P. H. u. Podack, W., Ueber die Beziehungen der sogenannten Rhinitis fibrinosa und des sogenannten Pseudodiphtheriebacillus zum Klebs-Loefflerschen Diphtheriebacillus. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LIV. 1895. p. 262.)
- 75) Grixomi, G., Sulla presenza di Bacilli similidifterici nelli otiti purulenti; cura sieroterapica. (Riforma med. Vol. III. 1896. p. 151.)

- 76) Glücksmann, S. J., Ueber die bakteriologische Diagnose der Diphtherie. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XXI. p. 417.)
- 77) Goldscheider, Bakteriologische Untersuchungen bei Angina tonsillaris und Diphtherie. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXII. 1893. p. 534.)
- 78) Golowkow, Zur Differenzierung der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nach der Neisserschen Färbungsmethode. (Wojenno-medic. shurn. 1899. No. 1. p. 187.)
- 79) Gorham, F. P., Morphological varieties of bacillus diphtheriae. (Journ. of med. research. 1901. July. p. 201.)
- 80) Gossage, A. M., The influence of glycerina in culture of media on the diphtheria bacillus. (The Lancet. 1896. No. 3807. p. 458.)
- 81) Groenouw, Bakteriologische Untersuchungen über die Aetiologie der Augenentzündung der Neugeborenen. (27. Versammlung der ophth. Gesellsch. zu Heidelberg 1898. p. 272.)
- 82) Gromakowski, D., Die differentielle Diagnose verschiedener Arten der Pseudodiphtheriebacillen und ihr Verhalten zur Doppelfärbung nach M. Neisser. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. 1900. p. 136.)
- 83) Günther, C., Bakteriologie. 5. Aufl. p. 420. Leipzig (G. Thieme) 1902.
- 84) Hála, A., Der Chalazionbacillus und sein Verhältnis zu den Corynebakterien. (Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. VI. 1901. p. 371.)
- 85) Hallé, Recherches bactériol. sur le canal génital de la femme. (Annales de Gynécol. et de l'Obstetr. T. LI. 1898. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. p. 645.)
- 86) Hallock, Park u. Beebe, A. L., Diphtheria and Pseudodiphtheria. (Journ. of Laryngol., Otol. and Rhinol. 1894. Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1894. No. 14.)
- 87) Hasslauer, W., Die Bakterienflora der gesunden und kranken Nasenschleimhaut. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 1. p. 47.)
- 88) Heinersdorf, H., Zur Schnell diagnose der Diphtherie, speziell der Diphtherie der Conjunctiva. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 397.)
- 89) — —, Ueber das Vorkommen den Diphtheriebacillen ähnlicher Mikroorganismen im menschlichen Konjunktivalsack u. s. w. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. XLVI. 1898.)
- 90) Hektoen, S., Experimental bacillary cirrhosis of sinew. (Journ. of pathol. Vol. VII. 1901. p. 214.)
- 91) Hewlett, R. T. u. Montagne-Murray, H., On common source of diphtheritic infection and a mean of dealing with. (Brit. med. Journ. 1901. Vol. I. p. 1194.)
- 92) Hewlett, R. T., Neissers diagnostic stain for diphtheriabacillus. (Brit. med. Journ. 1898. Vol. II. p. 599.)
- 93) — — and Knight, E., On the so-called pseudodiphtheria bacillus and its relation to the Klebs-Loeffler bacillus. (Transact. of the Brit. Instit. of Preventive Med. 1897. Serie I. p. 7. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. p. 793.)
- 94) Hilbert, Ueber Diphtherie, ihre Diagnose und die Erfolge der Heilserumbehandlung. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LVI. 1896.)
- 95) Hirota Kioyemon, Ueber die Mikroorganismen im Sekret der Conjunctivitis catarrhalis und im Bindehautsack des gesunden Auges. Inaug-Dissert. Halle, 1901.
- 96) Hofmann-Wellenhof, G. v., Untersuchungen über den Klebs-Loefflerschen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. (Wiener med. Wochenschr. 1888. p. 65.)
- 97) Horner, Gerhards Handbuch der Kinderkrankheiten. 1882. V, 2. p. 331.
- 98) Januszewska, Beitrag zur Differentialdiagnose zwischen Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen. Dissert. Bern, 1899.
- 99) Kanthack, A., Metachromatism in diphtheria bacillis. (Lancet 1896. No. 3808. p. 531.)
- 100) Kasztan, G., Beitrag zur Frage der Augendiphtherie. Dissert. Würzburg, 1900.
- 101) Klein, E., Zur Aetiologie der Diphtherie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 489.)
- 102) — —, Ueber zwei neue pyogene Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900. p. 417.)
- 103) Kober, M., Die Verbreitung des Diphtheriebacillus auf der Mundschleimhaut gesunder Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 416.)
- 104) Koplick, H., Forms of true diphtheria, which simulate simple catarrhal angina. New York med. Journ. 1892. Vol. II. p. 225.)
- 105) — —, Acute lacunar diphtheria of the tonsills. (New York med. Journ. 1894.)
- 106) Kresling, R., Die bakteriologische Untersuchung der diphtherieverdächtigen Halsheilege. (Pharmazent. Zeitschr. f. Rußland. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 557.)

- 107) Kruse, W., in Flügge, Mikroorganismen. Bd. II. 1896. p. 459.
—, und Pasquale, A., Untersuchungen über Dysenterie und Leberabsceß. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. 1894. p. 1.)
- 108) Kurth, H., Ueber die Diagnose des Diphtheriebacillus unter Berücksichtigung abweichender Kulturformen desselben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII. 1898.)
- 109) Kuschbert, Die Xerosis conjunctivae und ihre Begleiterscheinungen. (Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 21 u. 22.)
Kuschbert und Neisser, A., Zur Pathologie und Aetiologie der Xerosis epithelialis conjunctivae. (Bresl. ärztl. Zeitschr. 1883. No. 4.)
- 110) Lachowicz, Ueber die Bakterien im Konjunktivalsack des gesunden Auges. Arch. f. Augenheilk. Bd. XXX. 1895. p. 253.)
- 111) Lambotte, U., Les sensibilisatrices des bacilles diphtériques et pseudodiphtériques. (Centralbl. f. Bakt. etc. Vol. XXX. 1902. p. 817.)
- 112) Lawson, A., The bacteriology of the normal conjunctival sac. (Brit. med. Journ. 1898. 8. June u. Trans. Jenner Inst. II. series. 1899. p. 56.)
- 113) Leber, Th., Ueber die Xerosis der Bindehaut. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. XXIX. 1883. p. 225.)
- 114) Lehmann und Neumann, Grundriß der Bakteriologie. p. 382.
- 115) Lemoine, M., Virulence du bacille de Loeffler dans ses rapports avec les formes cliniques de la diphtérie. (Semaine médicale 1897. p. 249.)
- 116) Lesieur, M. Ch., Sur le diagnostic bactériologique de la diphtérie et sur la fréquence du bacille pseudodiphtérique. (Lyon méd. T. XCIV. 1900. p. 241.)
- 117) —, Production de paralysies chez les cobaye par des bacilles dits „pseudodiphtériques“. (Compt. rend. de la Société de biologie T. LIII. 1901. p. 817.)
- 118) —, De l'agglutination des bacilles dits „pseudodiphtériques“ par le sérum antidiphtérique. (Ibid. p. 819.)
- 119) —, Les bacilles dits „pseudodiphtériques“. Paris 1902.
- 120) Levy, E. und Klemperer, F., Grundriß der klinischen Bakteriologie. 2. Aufl. p. 212. Berlin (Aug. Hirschwald) 1898.
- 121) — und Wolf, S., Bakteriologischer Leitfaden. 2. Aufl. v. E. Levy und H. Bruns. p. 92, 45 u. 137. Straßburg i. E. (Beust) 1901.
- 122) — und Fickler, H., Ueber ein neues pathogenes, keulenförmiges Bakterium der Lymphe [Corynebact. lymph. vaccin.] (Deutsche med. Wochenschr. 1900. p. 418.)
- 123) Lie, X., Om den bakteriologiske differendiagnose. (Medic. Revue. Jahrg. XVII. 1900. p. 129.)
- 124) Lipstein, A., Ueber Immunisierung mit Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903. p. 421.)
- 125) Loeffler, F., Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. (Mitteilungen d. kais. Gesundheitsamtes. Bd. II. 1884. p. 421.)
- 126) —, Ergebnisse weiterer Untersuchungen über die Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. II. 1887. p. 105.)
- 127) —, Bemerkungen zu der Arbeit von Prof. E. Klein „Zur Aetiologie der Diphtherie“. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 528.)
- 128) —, Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Entstehung der Diphtherie. Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 5 u. 6.)
- 129) —, Ueber Diphtherie, ihre Behandlung und Bekämpfung. (Verhandl. u. Mittel. d. Ver. f. öffentl. Gesundheitspfl. in Magdeburg. 1896. p. 78.)
- 130) Lubowski, R., Ueber einen atavischen und avirulenten Diphtheriestamm und über die Agglutination des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900. p. 87.)
- 131) Martin, L., Examen clinique et bactériolog. de 200 enfants, entrés au pavillon de la diphtérie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892. p. 325.)
- 132) —, Production de la toxine diphtérique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. p. 26.)
- 133) Martini, L. de, Zur Differenzierung der Diphtheriebacillen von den Pseudodiphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. 1897. p. 87.)
- 134) Morax, La conjonctivite diphtérique. (Ann. de l'oculiste. T. CXIII. 1895. p. 238.)
- 135) Moritz, G., Zur Kenntnis der Conjunctivitis fibrinosa. (Inaug.-Dissert. Leipzig, 1893 u. Beitr. zur Augenheilk. v. Deutschmann. Bd. IX. 1893. p. 47.)
- 136) Morel, Contribution à l'étude de la diphtérie. Paris 1891.
- 137) Nakanishi, R., Bacillus variabilis lymphae, ein neuer Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. p. 641.)
- 138) —, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. p. 153.)

- 139) Neisser, A., Versuche über Sporenbildung beim Xerosebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888.)
- 140) Neisser, M., Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897. p. 443.)
- 141) Neumann, R. O., Bakteriologische Untersuchungen gesunder und kranker Nasen, mit besonderer Berücksichtigung des Pseudodiphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
- 142) Ortmann, Berlin. klin. Wochenschr. 1889. p. 110.
- 143) Paltauf und Kolisko, Wien. klin. Wochenschr. Bd. VIII. 1889.
- 144) Park, H. W., Beebe, L. and Williams, A. W., Study of a bacillus resembling the diphtheria bacillus found in milk and American cheese. Scientif. Bullet. No. 2. Health departm. City of New York. 1895.)
- 145) Pes, O., Note batteriologiche sul bacillus del sebo Meibomiani nelle affezioni congiuntivali e sulle sue affinità biologiche col bacillo di Loeffler. (Ref. med. 1899. No. 6. p. 63.)
- 146) —, Ueber die Aetiologie und Therapie einiger Formen von Conjunctivitis pseudomembranacea. (Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXII. 1896. p. 33.)
- 147) Peters, A., Ueber das Verhältnis der Xerosebacillen zu den Diphtheriebacillen u. s. w. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. p. 133.)
- 148) Peters, E. A., Diphtheria and pseudo-diphtheria bacilli. (Pathol. Soc. Transact. Vol. XLVII. 1896. p. 395. Journ. of Pathol. Vol IV. p. 181.)
- 149) —, The varieties of diphtheria bacilli. (Lancet. 1895. Dec. 21. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. p. 615.)
- 150) Pflüger, Keratitis ulcerosa mit Uveitis und Hypopyon. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. XXXVII. 1891. p. 208.)
- 151) Preisch, K., Zur Bakteriologie der Diphtherie und über Mischinfektion. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XVIII. 1898. p. 271.)
- 152) Preisz, H., Diphtheritis e pseudodiphtheritis bacillusok. (Orvosi Hirlap. 1893. No. 8. Ref. Baumg. 1893.)
- 153) Prochaska, Die Pseudodiphtheriebacillen des Rachens. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897. p. 373.)
- 154) Reymond-Colomiatti, Congresso internat. d'oftalmologia in Milano, 1880.
- 155) Ritter, J., Krup und Diphtherie. (Berl. Klinik. 1894. Heft 73.)
- 156) Roux, E. und Yersin, A., Contribution à l'étude de la diphtérie [3 Mémoire.] (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 385.)
- 157) Sahli, Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden.
- 158) Salter, A., The pathogenity of the pseudo-diphtheria bacillus and its relatio to the Klebs-Loeffler organism. (Transact. of the Jenner Inst. II. Series. 1899. p. 113.)
- 159) Schabad, J. A., Zur Frage der Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus und des Pseudodiphtheriebacillus. (Wratsch. 1901. No. 26. Ref. Baumgarten 1901.)
- 160) —, Die klinische Bakteriologie der Diphtherie. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LIV. 1901.)
- 161) Schanz, F., Zur Aetiologie der Diphtherie. (Deutsche med. Wochenschr. 1894. p. 920.)
- 162) —, Die Bedeutung der sogenannten Xerosebacillen bei der Diagnose der Diphtherie. (Berlin. klin. Wochenschr. 1896. p. 230.)
- 163) —, Zur Aetiologie der Conjunctivitis pseudomembran. (Arch. f. Augenheilk. Bd. XXXIII. 1896. p. 224.)
- 164) —, Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Berlin. klin. Wochenschr. 1897. p. 1002.)
- 165) —, Ueber die Pathogenität des Loefflerschen Diphtheriebacillus. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. p. 522.)
- 166) —, Erwiderung auf den Aufsatz von Prof. Axenfeld. (Berlin. klin. Wochenschr. 1898. No. 9. Berlin. klin. Wochenschr. 1898. p. 363 u. 674.)
- 167) —, Die falschen und echten Diphtheriebacillen. (Wien. med. Presse. 1898. No. 28.)
- 168) —, Ueber Menschen- und Tierpathogenität des Loefflerschen Bacillus. (Wien. med. Presse 1898. No. 52.)
- 169) —, Ueber den Diphtheriebacillus. (München. med. Wochenschr. 1888. p. 333.)
- 170) —, Die sogenannten Xerosebacillen und die ungiftigen Loefflerschen Bacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII. 1899. p. 435.)
- 171) —, Zu Behrings neuester Diphtherietheorie. (Münchn. med. Wochenschr. 1902. p. 64.)
- 172) Schläfke, Der Xerosebacillus. [Historisches Referat.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. 1887. p. 177.)

- 173) Schleich, Zur Xerosis conjunctivae. (Mitteil. aus der Tübinger Augenkl. Bd. II 1890. p. 145.)
- 174) Schulz, R., Beitrag zur Lehre von der Xerosis conjunctivae. (Graefes Arch. f. Ophthalm. Bd. XXX. Heft 4. 1884. p. 123.)
- 175) Schwoner, Ueber Differenzierung der Diphtheriebacillen von den Pseudodiphtheriebacillen. (Versamml. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Karlsbad 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. Referate. 1902. p. 646.)
- 176) Simoni, A. de, Ueber einen sporogenen Pseudodiphtheriebacillus aus Ozaenasekret. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 294.)
- 177) — —, Sulla frequente presenza di bacilli pseudodifterici sulla mucosa nasale. (L'Ufficiale sanitario. 1899. p. 241.)
- 178) — —, Beitrag zur Morphologie und Biologie der Pseudodiphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899. p. 673.)
- 179) Slawyk und Manicatis, Untersuchungen über 30 verschiedene Diphtheriestämme mit Rücksicht auf die Variabilität derselben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 181.)
- 180) Spronck, C. H. H., Le diagnostic bactériologique de la diphtérie contrôlé par le sérum antidiphtérique. (Semaine médicale. 1896. p. 317.)
- 181) — —, Ueber die vermeintlichen „schwach virulenten Diphtheriebacillen“ des Konjunktivalsackes und die Differenzierung derselben von dem echten Diphtheriebacillus mittels des Behring'schen Heilserums. (Deutsche med. Wochenschr. 1896. p. 571.)
- 182) — —, Le diagnostic de la diphtérie et les difficultés causées par les bacilles pseudodiphtériques. (Semaine médicale. 1897. p. 353.)
- 183) Steenmeyer, F. G. I., Over den aard en de betoekens der Corynebacterien, die op den normalen Pharynx von den mensch voorkomen. Dissert. Utrecht, 1897. (Ref. Baumg. 1897. p. 316.)
- 184) Stein, W., Zur Bakteriologie der Ozaena. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900.)
- 185) Stephenson, On epithelial xerosis of the conjunctiva. (Transact. of the ophthalm. Soc. Unit. Kingd. Vol. XVIII. 1898. p. 58. Ref. Baumg. 1898. p. 316.)
- 186) Strassburger, J., Ueber die Virulenz der Diphtherie in Bonn. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV. 1897. p. 389.)
- 187) Sudeck, P., Ueber das Vorkommen von diphtherieähnlichen Bacillen in der Luft. (Festschr. z. Feier d. 80-jähr. Stiftungsfestes d. ärztl. Ver. z. Hamburg. 1896.)
- 188) Tangl, F., Studien über die menschliche Diphtherie. I. Zur Aetiologie. (Arch. aus dem path. Institut zu Tübingen. Bd. I. 1891. Heft 1.)
- 189) Thorn, H., Ueber den Befund eines diphtherieähnlichen Bacillus auf granulierenden Wunden. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LVIII. 1899. p. 857.)
- 190) Trampp, J., Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen im Empyemeiter. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. p. 721.)
- 191) van Turenhout, L. C. H. F., Over de bereiding van diphtheriegif. Utrecht (J. van Boekhoven) 1895. (Ref. Hyg. Rdsch. 1896.)
- 192) Ustvedt, Y., Den bakteriologiske difteridiagnose og pseudodifteribacillen. (Norsk Magazin for Lagevidenskaben. Bd. XIV. 1899. p. 681. Ref. Baumg. 1899. p. 771.)
- 193) Uthoff, W., Ein weiterer Beitrag zur Conjunctivitis diphtheritica. (Berlin. klin. Wochenschr. 1894. p. 771.)
- 194) Uthoff, W., und Axenfeld, Th., Beiträge z. pathol. Anat. u. Bakteriolog. der eitrigen Keratitis des Menschen. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. XLII. 1896.)
- 195) della Vedova, La diagnosi differenziale fra il bacillo di Loeffler ed il simili. (Gazz. d'Ospedali. 1898. 14 agosto. Ref. Baumg. 1898. p. 253.)
- 196) Virgin, G., Den bakteriologiske diagnosen af difteri. (Upsala Läkareförening Förhandlingar. Bd. IV. N. F. H. 617. 1899. p. 507.)
- 197) Waelsch, S., Ueber einen Bakterienbefund bei Pemphigus vegetans, nebst Bemerkungen zur Differentialdiagnose zwischen Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen. (Arch. f. Dermatologie u. Syphilis. L, 1, 71. 1899.)
- 198) Warnecke, Befund von Xerosebacillen bei progredienter Phlegmone sekundärer Wundinfektion und Otitis interna. (Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 1412.)
- 199) Wassermann, A., Ueber die persönliche Disposition und die Prophylaxe gegenüber Diphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895. p. 408.)
- 200) Weeks, I. E., Xerosis conjunctivae bei Säuglingen und Kindern. (Arch. f. Augenheilk. Bd. XVII. 1887. p. 193.)
- 201) — —, Der Bacillus des akuten Bindehautkatarrhs. (Arch. f. Augenheilk. Bd. XVII. 1887. p. 318.)

- 202) Welch, W. and Abbot, A., The etiology of diphtheria. (Bull. of Johns Hopkins Hospital 1891.)
 203) Wright, J. H., Studies on the pathology of diphtheria. (Boston med. and surg. Journ. Vol. IX. 1894.)
 204) Zarniko, C., Zur Kenntnis des Diphtheriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. No. 6—8.)
 205) Zupnik, L., Ueber Variabilität der Diphtheriebacillen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1897. p. 1085.)
 206) — —, Die Aetiologie der Diphtherie. (Prag. med. Wochenschr. Bd. XXVII. 1902.) Nachtrag.
 207) Pfeiffer, H., Ueber Bakterienbefunde in der normalen Urethra und den „Syphilis-bacillus“ Max Josephs. (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 26.)
 208) Waelsch, Bakterienbefunde bei Syphilis. (Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXVIII. 1904. p. 119.)

Nachdruck verboten.

Geißeln bei einer 5 Monate alten Proteuskultur und einer 10¹/₂ Monate alten Kultur von *Micrococcus agilis*.

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Josefs-Spitals in Wien.]

Von Dr. A. Hinterberger in Wien.

Mit 1 Tafel.

Wenn über Geißeln gesprochen wird, so heißt es gewöhnlich, daß nur junge Kulturen zur Darstellung der Geißeln in gefärbten Präparaten sich eignen. Kuntze¹⁾ und besonders Peppler²⁾ hingegen teilen mit, daß auch wochen-, selbst monatealte Kulturen noch gute Präparate geben. Peppler hat schon sehr alt zu nennende Kulturen (*B. typhi* 60 Tage, *B. typhi murium* 48 Tage, *B. coli* 40 Tage, *B. enteritidis* 40 Tage, *Proteus vulgaris* 40 Tage, *Proteus mirabilis* 45 Tage) gefärbt und noch gute Geißelpräparate erhalten.

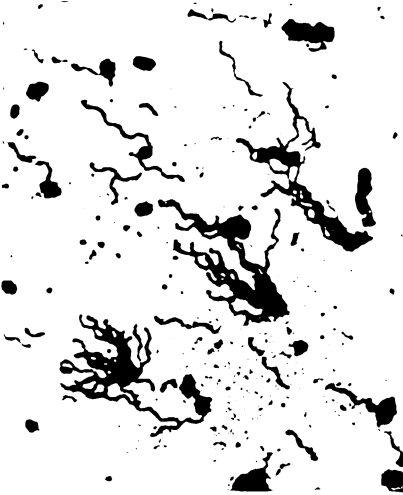
Da ich auch wiederholt sehen konnte, daß ältere Kulturen, solange sie noch saftig aussahen, Geißeln zeigten, färbte ich zwei sehr alte Kulturen, welche ich zufällig besaß, eine 5 Monate alte Kultur von *Proteus* auf gewöhnlichem alkalischen Agar und eine 10¹/₂ Monate alte Kultur von *Micrococcus agilis* auf Milchzuckeragar, und konnte, wie die hier begedruckten Photogramme zeigen, auch aus diesen Kulturen befriedigende Geißelpräparate erhalten. Besonders der *Micrococcus agilis*, welcher noch einen dicken, glänzenden, lebhaft rosa gefärbten Rasen aufwies, bot ein Bild, das von dem Bilde, welches er vermutlich in seinen ersten Lebenstagen gezeigt haben dürfte, kaum abweicht. Es lag daher nahe, daran zu denken, daß diese Formen gewissermaßen wohlerhaltene Leichen dieser Kleinlebewesen zeigen, besonders da die Organismen im hängenden Tropfen keine Eigenbewegung mehr zeigten, obzwar ja deren unveränderte Färbbarkeit von vornherein gegen diese Vermutung sprach. Da beide Kulturen sich ohne weiteres mit bestem Erfolge, wie die Photogramme der Geißelpräparate aus deren Tochterkulturen zeigen, abimpfen ließen, war mindestens kein Beweis für diese Ansicht zu finden.

Rossi³⁾ hat gesagt, daß zur Erzielung geißeltragender Formen von

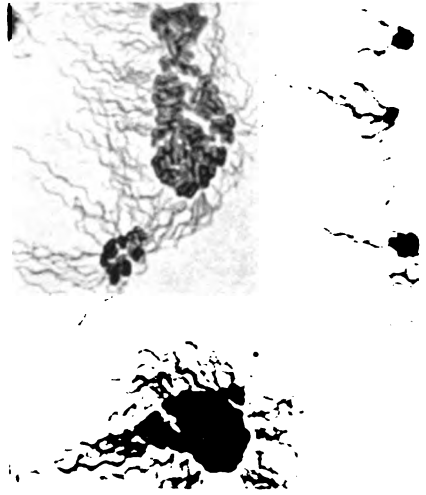
1) Kuntze, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. p. 555.

2) Peppler, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. p. 345.

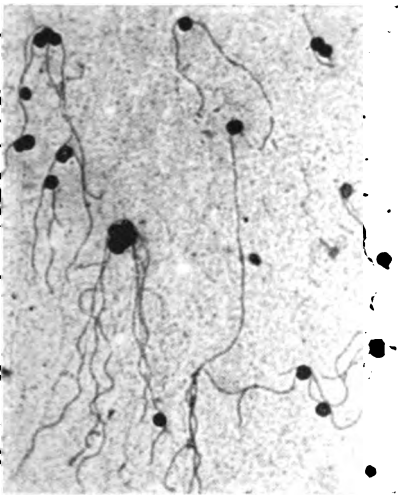
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 572.



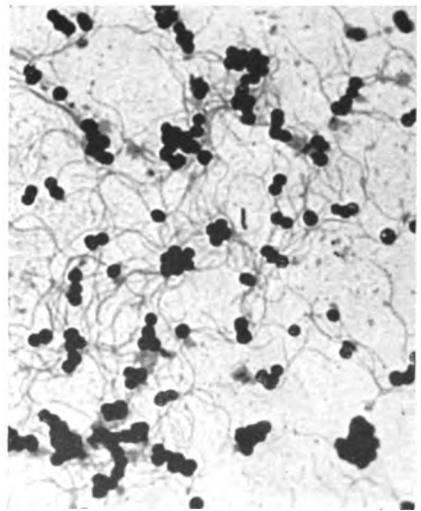
Proteus, 5 Monate alt.



Proteus, 4 Tage alt, in Häufchen liegend.



Micrococcus agilis, 10 1/2, Monate alt.



Micrococcus agilis, 4 Tage alt, meist in Häufchen liegend.

Photogramme von Univ.-Lehrer **Hugo Hinterberger**, Wien.

184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

Kleinlebewesen die Feuchtigkeit der Oberfläche des zur Kultur verwendeten Agars wichtig sei. Nach dem, was ich bisher gesehen habe, kann ich das nur bestätigen. Auch die genannten Kulturen von *Proteus* und *Agilis* waren auf sehr feuchter Agarfläche gewachsen.

Ich verschließe gewöhnlich die mit möglichst frischem Agar beschickten Röhrchen mit einer Kautschukkappe, löse den Agar im Wasserbade, lasse dann das Röhrchen im Wasserbade, bis es dem Erstarrungspunkte des Agars nahe abgekühlt ist, stehen und lege erst dann die Epruvette schief, um den Agar schief erstarren zu lassen. Da weder während des Lösens des Agars noch während des Erstarrens noch weiterhin vom Agar Wasser abdunsten kann, muß wohl die Oberfläche des Nährbodens stark wasserhaltig bleiben, und auch weiterhin, da der erstarrte Agar während der nächsten Tage meist Flüssigkeit auspreßt, dessen Oberfläche auch dann feucht bleiben, wenn die Organismen zum Aufbau ihrer Körper der Oberfläche fortdauernd Feuchtigkeit und Nährstoffe entziehen. Luftzutritt scheint eine sehr untergeordnete Rolle beim Leben dieser Kulturen zu spielen, sonst hätten diese alten Kulturen doch zu Grunde gehen müssen.

Die Färbungen habe ich nach der Methode von van Ermengem (unter Anwendung der von mir angegebenen Modifikation) gemacht, da ich auf diese Methode eingeübt bin und die Sicherheit der Resultate mir das Plus an Arbeit, welches mit meiner Modifikation verbunden ist, bezahlt. Ich erlaube mir zu den beiden (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. p. 597 und (besser) Bd. XXX. p. 420) gemachten Angaben über eine Modifikation der Methode von van Ermengem folgendes nachzutragen und zu berichtigen:

Das Abbrennen der gereinigten Deckgläser, wobei so manches Deckglas springt oder mindestens zerbrechlicher wird, ist nur dann nötig, wenn z. B. der beim Reinigungsprozesse verwendete absolute Alkohol nicht tadellos war. Richtig nach van Ermengem gereinigte Deckgläser sind wirklich rein.

Bei Bereitung der von van Ermengem angegebenen Lösung zum Reinigen der Deckgläser ist es zweckmäßig, erst 60 g doppelchromsaurer Kali in einem Kochkolben mit 1 l H₂O durch Erwärmen zu lösen, diese Lösung zu filtrieren und dann erst nach Abkühlung der Lösung die 60 g Schwefelsäure zuzufügen.

Wenn man die Deckgläschen auf dem Glasroste möglichst voneinander getrennt aufschichtet und vor dem Kochen 24 Stunden in der Lösung im Becherglase liegen läßt, so erleichtert man wesentlich deren Reinigung.

Das Auftragen der Kulturemulsionen empfiehlt sich bald mehr mittels einer kleinen Oese, bald mehr mit einem hakenförmig gebogenen Platindraht. Wenn die Körper der Kleinlebewesen sehr groß sind, so kann es geschehen, daß man sie mit dem Haken einfach über das Deckglas wegschiebt und dann fast keine Organismen ins Gesichtsfeld bekommt, außer am Rande und besonders am Ende des Striches. Wenn die Körper klein sind, so verteilen sie sich mit dem Haken allerdings viel besser als mit der Oese, jedoch reißt man oft beim Aufstreichen die Geißeln ab. In mit der Oese gemachten Aufstrichen findet man oft die Organismen in Häufchen gelegt, so daß die Beurteilung des Aussehens des Einzelindividuums unmöglich wird. Es empfiehlt sich also, immer eine Hälfte des Deckglases mit der Oese und eine mit dem Haken zu beschicken, um beide Bilder von der Emulsion zu bekommen,

um sowohl alle Geißeln erhalten zu sehen, als auch einzeln liegende Organismen gefärbt zu bekommen.

Ich fixiere jetzt nach wie vor im Blutöpfchen, doch so, daß ich die Deckgläser auf ein auf Tonfüßchen stehendes Kupferblech lege, dieses in das Blutöpfchen stelle und nun das Blutöpfchen bis auf 100° Innentemperatur erhitze. Dann drehe ich die Flamme ab und nehme die Deckgläser wieder heraus, sobald die Temperatur, welche um etliche Grade über 100° nachstieg, wieder auf ca. 100° gesunken ist.

Es ist vorteilhaft, sich für jede Färbung die Beize immer frisch aus einer selbst bereiteten Osmiumsäurelösung und einer frisch filtrierten Tanninlösung zusammenzugießen.

Die Osmiumsäurelösung hält sich monatelang sehr gut auch im hellen Fläschchen, wenn sie ordentlich gemacht wurde. Ich verfähre folgendermaßen: Ich reinige das zugeschmolzene Glasröhrchen, welches die Osmiumsäurekristalle enthält, mit Wasser, dann mit der Kaliumbichromatlösung (derselben, welche ich zur Reinigung aller meiner Gläser sowie der Deckgläser verwende), spüle ab, lasse etwas trocknen, erhitze den Pol des Röhrchens, wo wenig oder keine Osmiumsäurekristalle kleben, an der kleinen Flamme und tupfe mit 1 Tropfen Wasser auf das erhitze Glas, wodurch es springt und die Kappe leicht abgeschlagen werden kann. Dann werfe ich die Kristalle in ein ebenso sorgfältig gereinigtes Säurefläschchen, in welchem bereits etwas H_2O ist, und löse den im Röhrchen befindlichen, den Wänden anhaftenden oder an den Wänden sublimierten Rest von Osmiumsäure (indem ich in das Röhrchen H_2O gieße und mit einer dicken geglühten Platinnadel die Teilchen von der Glaswand abstoße), bis alle Osmiumsäure aus dem Röhrchen entfernt ist, und ergänze dann die Wassermenge im Säurefläschchen auf die 50fache Gewichtsmenge der Osmiumsäure. Wenn ich dann das verschlossene Fläschchen in warmes Wasser stelle, verflüssigt sich die Osmiumsäure zu einem grünlichen Tropfen und löst sich während des Erkaltes der Flüssigkeit von selbst zu einer wasserhellen Lösung. Wenn man keinen Fehlgriff macht, bekommt man so eine ganz reine Osmiumsäurelösung, und es riecht nicht einmal irgend nennenswert nach Osmiumsäure beim Arbeitstische. Man kann also sicher sein, daß dabei keine Osmiumsäure verloren gegangen ist und das Auge nicht gefährdet wird.

Ebenso bleibt auch die Tanninlösung längere Zeit gut, wenn man reinlich gearbeitet hat. Sobald aber in der Tanninlösung sich beim Umschütteln eine Spur von Trübung zeigt, ist es besser, sich eine neue Tanninlösung zu machen, denn schlechte Beize kann die ganze Arbeit des Färbens zwecklos machen. Gutes Tannin löst sich im vierfachen Gewichte H_2O zu einer klaren braunen Flüssigkeit. Alte Tanninlösungen scheinen überhaupt mindere Beizen zu geben. Es wird sich empfehlen, sich immer nur 0,25 Osmiumsäure zu lösen und etwa 30 ccm von der 20-proz. Tanninlösung zu machen, damit man stets ziemlich frische Reagentien verwendet.

Die Beize macht man dann am besten so, daß man in eine kleine, nicht zu enge Mensur 1,5 ccm Osmiumsäurelösung gießt und dann in einem Guß mittels frisch filtrierter Tanninlösung auf 4,5 ccm auffüllt, schüttelt¹⁾ und gleich durch ein nasses Filter die fertige Beize filtriert.

1) Noch besser ist es, beide Lösungen für sich abzumessen und in einem reinen Schüttelkölbchen (die Osmiumsäure muß als erste eingegossen werden) zu vereinen und zu mischen.

Es muß dann eine dunkelblaue Flüssigkeit resultieren. Wenn sich beim Zusammengießen ein brauner Satz bildete, wie es zuweilen vorkommt, so hat man die Tanninlösung zu langsam eingegossen, die Stoffe zu langsam gemischt. Eine derartige Beize ist unbrauchbar.

Zusatz von Essigsäure zur Beize ist bei Verwendung guten Tannins unnötig, ebenso das Abwaschen der Beize mit angesäuertem Wasser. (Doch bekommt man zuweilen Tannin, bei welchem das eine oder beides zur Erzielung reiner Präparate nötig wird). Ich lege jetzt die Deckgläser nach Abgießen und gutem Abspülen der Beize mit fließendem Brunnenwasser in eine große Schale mit H_2O , lasse dort die Beize sich vollends lösen, nehme ein Deckglas nach dem anderen, schwenke es in diesem Wasser, lege es in absoluten Alkohol, dann nochmals in absoluten Alkohol, dann in H_2O , worin es bleibt, bis es mit der Glas-pincette für die Färbung gefaßt wird.

Es ist nicht nötig, warme Lösungen zu verwenden, weder beim Beizen noch bei der ersten Silberlösung. Ich verwende allerdings noch immer zumeist warme Silberlösungen beim ersten Silberbade, aber nur deshalb, weil ich kleine Thermophile¹⁾ zum Trocknen der Präparate vor dem Fixieren und vor dem Einschließen in Balsam verwende, also fast immer bequeme Wärmequellen ohnedies am Tische bereit stehen habe.

Die Angaben, welche ich über die Einwirkung des Lichtes bei der Methode von van Ermengem seinerzeit machte, sind nicht richtig. Ich wurde dadurch getäuscht, daß die Schwängerung der Atmosphäre des Arbeitsplatzes mit Ammoniak, welche mit der Dauer des Färbens mehrerer Deckglaspräparate hintereinander selbstredend stieg, fast immer auch mit dem einbrechenden Abend zusammenfiel. Das Alkali, die Ammoniakdämpfe bewirkten den immer rascheren Verlauf der Reaktionen bei eintretender Dunkelheit, nicht aber die Dunkelheit selbst. Ebenso erklären sich die zu raschen Reaktionen an dunkeln Tagen daraus, daß ich da beim Arbeiten hier und da an ein Ammoniakschälchen anstieß, wodurch Ammoniaklösung auf den Tisch floß und die Atmosphäre des Arbeitsplatzes alkalisierte.

Ich verwerte diese Beobachtung jetzt insofern, als ich einerseits in Bezug auf Ammoniakdämpfe im Zimmer oder sonstige Alkalien, welche an den Gefäßen haften könnten, sehr vorsichtig bin, andererseits Ammoniakdämpfe durch Blasen in der Richtung von dem Ammoniakschälchen gegen die Silbernitrat-schälchen schaffe, sobald die Endreaktionen, die eigentlichen Färbungen, gar zu langsam verlaufen.

Den Vorwurf, welchen Kuntze²⁾ mir machte, nämlich daß Präparate, welche nach meinen Angaben gefärbt sind, ausblassen, kann ich nicht zur Kenntnis nehmen. Ich habe die Präparate, deren Photographie ich in meiner ersten bakteriologischen Arbeit veröffentlichte, wieder angesehen und gefunden, daß die Farben vollkommen unverändert sind. Die Präparate stammen aber aus dem Winter 1900, sind also 4 Jahre (allerdings in der Schachtel aufgehoben) unverändert geblieben. Es ist auch sehr unwahrscheinlich, daß Bakterienpräparate, welche, wie ich glaube, dadurch gefärbt sind, daß in die oberflächlichen Teile der Organismen Silber in Form von kolloidalem Silber eingeführt wurde, und welche weiter sehr ähnlich behandelt wurden wie eine photographische Kopie, die man gut auswäscht und mit Gold tont, aus-

1) Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie u. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. p. 14—16.

2) l. c. p. 559.

blassen. Ich werde übrigens einige Präparate längere Zeit dem Licht aussetzen und, falls sie ausblassen sollten, dieses dann hier melden¹⁾.

Die Abbildungen sind Autotypieen nach Negativen von Hugo Hinterberger, Universitätslehrer für Photographie in Wien. Die Präparate wurden mit Zettnow-Filter, homogener Immersion 2 mm B. Zeiss und Projektionsokular No. 4 mit einer Vergrößerung von 1:2000 aufgenommen, hierauf von den Negativen Diapositive gemacht und von diesen dann um ein Viertel verkleinerte Clichés angefertigt.

Bei den Photogrammen der 4 Tage bei Zimmertemperatur gewachsenen Tochterkulturen der beiden alten Kulturen wählte ich Stellen aus, wo die Bakterien dichter oder in Häufchen zusammenliegen, da es sich ja nur darum handelte, zu zeigen, daß die aus den alten Kulturen gezogenen Bakterien vollkommen normal waren. Bilder von Geißelpräparaten, wo die Bakterien in Häufchen zusammenliegen, sind aber in der Literatur seltener veröffentlicht als Bilder von isolierten Bakterien, folglich etwas interessanter für den Leser. Außerdem ist es schwieriger, in Häufchen liegende Geißelträger ordentlich zu färben als einzelstehende.

Nachdruck verboten.

Notes on the *Bacillus coli*.

By Freeland Howe jr. in Norway, Maine, U. S. A.

With 1 diagram.

From data accumulated during routine work in estimating the numbers of the *Bacillus coli* (Escherich) in samples of water examined during the experimental filter studies at Harrisburg, Pennsylvania, there have been tabulated results which have value in determining the worth of the gas formula as a distinctive diagnostic character in species work. The cultures tabulated below are only those which gave complete tests as the *Bacillus coli* (Escherich), viz: gave red colonies on litmus lactose agar, produced gas in glucose bouillon, coagulated milk, formed indol, reduced nitrates to nitrites and produced characteristic growth on gelatine. Certain cultures which gave positive tests in all these reactions and which are believed to differ from the true *Bacillus coli* (Escherich) perhaps to the extent of specific characters were encountered during the work and are included in the tabulations for the reason that the work as done did not show that they were anything else according to the usual standards of diagnosis.

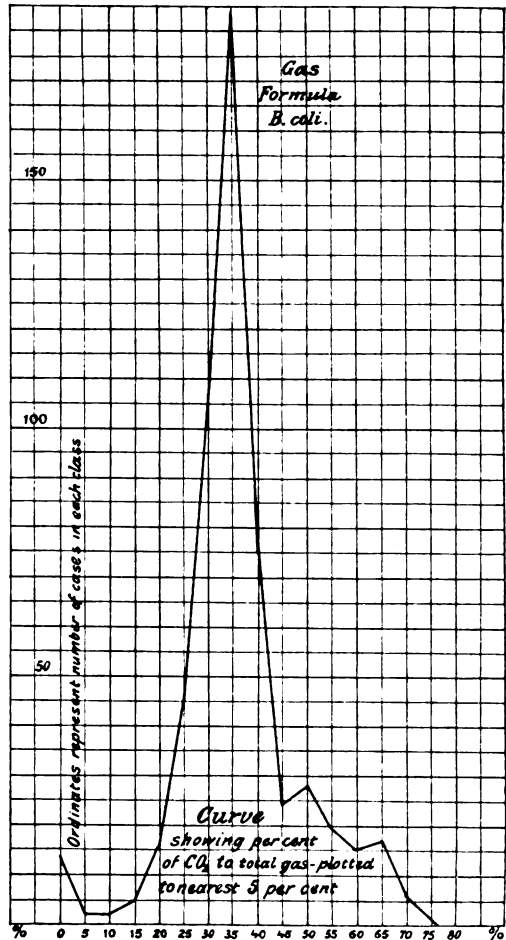
The amount of gas produced in the closed arm of fermentation tubes by different cultures appearing in the course of the tests for numbers of colon bacilli varied from zero to 100 percent. The amount of carbon dioxide in this gas varied from zero to about 75 percent. The greater part of the gas in the closed arm of these tubes was made up of about 33% of carbon dioxide, which has been recognized by some

1) Ich habe Präparate über 3 Monate dem vollen Tageslichte sowie der Einwirkung der Sonne (so oft sie eben im Winter 1904 schien) ausgesetzt, indem ich sie in einem Glasgefäße in ein nach Westen gerichtetes Fenster gestellt habe, und konnte nach Ablauf dieser Zeit keine Veränderung resp. Abschwächung der Färbung konstatieren.
Wien, April 1904.

NB. Beide Kulturen (heute 1 Jahr resp. 17 Monate alt) zeigen im Präparate ein unverändertes Bild und sind noch überimpfbar.
Wien, Juni 1904.

to represent the exact proportion of carbon dioxide produced by the colon bacillus when it is grown in glucose bouillon. Recognizing the variation which appeared it was desired to learn something of the constancy of the gas formula, if there is any such thing as constancy; consequently the gas formula of all cultures giving positive reactions as the colon bacillus were plotted on coordinate paper, the abscissae being the percentages of carbon dioxide to the nearest five percent, and the ordinates under each class so formed being plotted as individual occurrences in each class. For convenience of more detailed study the entries were made in this scheme by recording the number of the culture, whether it produced a red color in the fermentation tube or not, and any other noticeable characteristic of the culture as the liquefaction of the casein, the strength of the indol reaction etc.

Plotting the gas formulas in this way there was obtained a curve with the mode at 35 percent. From this point the curve dropped abruptly on both sides so that there was formed a curve which is fairly represented in the accompanying diagram. Particular peculiarities of this curve are that the class 35 percent contains 183 cases tapering off gradually on both sides to one case in the 75 percent class and two cases in both the five and ten percent classes. The zero percent class contains 14 cases and forms a decided secondary mode to the curve. The peculiarities of the cultures occurring in this class are great, especially noticeable among which is



the very small percentage of total gas in the closed arm. In all probability the cultures coming in this class are attenuated in some way. The greater percentage of the cultures which produce a red color in the closed arm, when standing 24 hours after the addition of caustic potash, occur to the right hand of the mode, although a few cases occur on the left hand, and three cases in the class where there was no absorption in the closed arm on the addition of caustic potash.

Altogether the curve represents what can fairly be called a good curve for the biological character of any particular kind of organism.

This method of determining the characters of any particular species of organism is recognized as fixing most accurately the limits within which the characters or any particular character of a species may vary. The production of gas by a culture of bacteria is a physiological function which in all probability is liable to variation, depending wholly on the various factors or components of the environment to which a particular culture of bacteria is at the time of study or has in the past been subjected. The production of carbon dioxide in the metabolic activities of vertebrate animals is subject to a very wide variation depending on the immediate conditions under which the organism in question lives. So apparently with cultures of bacteria. To say that a certain culture of bacteria which produces, instead of 33 percent carbon dioxide, 25 percent, 30 percent, 40 percent or 50 percent, is not the colon bacillus on this account, seems to be unwarranted after a due consideration of the facts. It is probable that some of the cultures which produce a gas formula of which carbon dioxide forms approximately 67 percent are different from the *Bacillus coli* (Escherich). It would be of considerable service to bacteriologists engaged in water analysis to be able to eliminate certain cultures of bacteria by means of this red color occurring in fermentation tubes if it was found out that they were not closely related to the colon bacteria.

The red color which has been mentioned as occurring in fermentation tubes used in the quantitative determination for colon bacteria, when these tubes had stood 24 hours or more after the addition of caustic potash to absorb the carbon dioxide in the gas of the closed arm, is something which is very decided and which marks these tubes distinctly from those in which it does not occur. Whether or not the color is due to the excreted product of the bacteria during their growth or whether it is due to some chemical reaction which takes place between the caustic potash and the gas, or whether it is some oxidation product of something which has been formed during the growth of the culture by the action of the air on this product, has not been learned. Just what produces this red color, in other words, is not known. If it were possible to determine the species to which a culture characterized by this color belongs it would be of decided advantage to bacteriologists engaged in water analysis. To this end endeavors were made to learn the nature of this red color, and while these efforts have been unsuccessful a few observations which have been made will be of interest. It has been observed that the quantity of sugar which remains in tubes not having this red color is greater as determined by Fehling's solution than in the tubes which have the red color. In 5 ccm of the liquid from a tube not having the red color there was sufficient sugar to reduce over 60 ccm of Fehling's solution while in 5 ccm of liquid from a tube having the red color there was sufficient sugar to reduce only 5 ccm of Fehling's solution. The exact bearing of this observation is not known.

Three flasks containing glucose bouillon were inoculated with a culture which produced a red color in fermentation tubes. After standing three weeks without the addition of caustic potash they developed the same red color which was developed with the caustic potash in fermentation tubes, while cultures not producing the red color did not produce the red color in the flasks even after the addition of caustic potash. The red color of the liquid was found to be dispelled when rendered

acid by the addition of sulphuric acid. On making the liquid alkaline again the red color was restored but not to its former degree. This would indicate perhaps that the red color was produced by the presence of something analogous to the phtaleins. As has been said the cause or the significance of the red color has not been learned.

Nor way, Maine, U. S. A., 15 Febr. 1904.

Nachdruck verboten.

Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

1. Mémoire.

Introduction générale à l'étude des maladies bryocytiques.

Par **F. J. Bosc**, Professeur à l'université de Montpellier.

Nous avons déjà exposé (Presse méd. 1902. 14 janv.; Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. No. 5, 6 et 7 et Soc. de Biol. 1902 et 1903), ce qu'il faut entendre par Maladies bryocytiques. Ce sont des maladies dans lesquelles l'action du virus s'exerce essentiellement sur les éléments cellulaires pour les faire proliférer (de βρῖν, faire proliférer, κίτος, cellule). Il s'agit d'une prolifération cellulaire pure, dépourvue de toute allure phlegmasique banale, et produite par un agent pathogène qui n'agit pas sur les cellules pour les tuer rapidement, mais qui se comporte comme un parasite vrai, c'est-à-dire comme un être qui, pendant toute la durée de son développement, vit aux dépens de la cellule qui le renferme. Il provoque d'abord la prolifération puis l'hyperthrophie progressive de la cellule, ensuite une transformation claire, une vacuolisation et enfin des phénomènes de dégénérescence dûs à l'épuisement de sa nutrition et à la compression mécanique. Ces cellules ont donc une vie prolongée et comme elles présentent une reproduction karyokinétique très active, il se formera une accumulation, volumineuse de cellules du même type au point lésé: une papule, une nodule, une tumeur.

Toutes les cellules de l'économie sont susceptibles de subir de pareilles influences, les cellules fixes, comme les cellules mobiles.

I. Cellules fixes. — Les cellules épithéliales sont le plus fréquemment atteintes, mais les cellules conjonctives peuvent l'être séparément; d'ordinaire, les deux espèces de cellules sont lésées à la fois mais inégalement. Si l'on prend, en effet, un cas de prolifération à début épithélial, comme la papule vaccinale, on voit que cette prolifération, qui progresse d'abord aux dépens des cellules épithéliales, s'accompagne bientôt d'une prolifération des cellules conjonctives fixes et des cellules vasculaires. Ces néoformations cellulaires pures, désordonnées, pénétrantes, de type néoplasique, qui s'accompagnent d'une légère mononucléose se retrouvent, à des degrés variés, dans la variole, la clavelée, la syphilis, le cancer.

La néoformation bryocytique est donc constituée par une prolifération cellulaire pure, à la fois épithéliale et

conjunctivo-vasculaire, de type néoplasique, avec légère mononucléose du sang¹⁾.

Ces néoformations peuvent: disparaître assez rapidement et d'une façon définitive; ou bien disparaître momentanément pour reparaitre par poussées, à intervalles irréguliers; ou encore présenter, une fois constituées, un accroissement indéfini.

On peut ainsi envisager 3 catégories principales parmi les manifestations bryocytiques:

Celles de la 1. catégorie, c'est-à-dire à évolution rapide et à disparition définitive, sont en rapport avec un état infectieux prononcé; elles ne présentent que des néoformations de petit volume localisées ou généralisées, désignées sous le nom de pustules, accompagnées d'une hypertrophie ganglionnaire avec induration et dont la régression rapide dépend de l'action dégénérative du parasite sur la cellule et de la précocité de l'immunisation. L'arrêt de croissance et la régression de la pustule se marquent, en effet, à partir du moment où l'immunité se manifeste, comme on le voit nettement pour la vaccine.

Dans ce premier groupe de maladies bryocytiques, maladies éruptives, infectieuses aiguës, contagieuses et le plus souvent épidémiques, il faut faire entrer la vaccine, la variole, la clavelée, la fièvre aphteuse. La rage doit y être classée également (Compt. rend. soc. biol. 1903. 7 Nov.): les cellules, en effet, ne participent au processus bryocytique que dans la mesure de leur capacité normale de prolifération; sous l'influence du virus rabique, la cellule nerveuse qui est une cellule dite «permanente» subira les lésions caractéristiques d'hypertrophie claire, de vacuolisation, de dégénérescence, mais elle ne prolifèra pas. Ce sont les cellules voisines, cellules névrogliales et vasculaires, aptes à proliférer, qui constitueront la lésion nodulaire (nodules rabiques péri-vasculaires et péricellulaires) et nous avons montré aussi que les cellules épithéliales de la glande sous maxillaire pouvaient donner naissance à des proliférations épithéliales d'aspect adénomateux (Compt. rend. soc. biol. 7. Nov. 1903.)

Les manifestations bryocytiques de la 2. catégorie évoluent avec les caractères d'une maladie infectieuse et contagieuse et présentent aussi des lésions pustuleuses de petit volume mais d'évolution plus lente. Le nodule ou chancre d'inoculation, d'apparition tardive et de durée assez prolongée, est suivi de ganglions hypertrophiés et indurés et de consistance ligneuse, puis d'une éruption généralisée et d'une mononucléose du sang. Ces éléments éruptifs subissent une régression consécutive mais lente qui aboutit à leur disparition totale ou à un processus particulier de dégénérescence qui constitue la gomme (Compt. rend. soc. biol. 1904. Février). Lorsque cette régression est complète à la peau et aux muqueuses, la maladie paraît guérie, mais, en réalité elle persiste pendant toute la vie de l'individu, car à intervalles rapprochés ou éloignés de nouveaux accidents éruptifs se manifestent. Cette persistance de la maladie est certainement en rapport avec la persistance, dans l'économie, d'un parasite qui, après une période de latence plus ou moins longue, se déverse de temps à autre, dans le sang. La syphilis est le type

1) Les mots épithéliose et épithéliomatose sont des mots qui ne doivent pas être maintenus; ils ne correspondent pas à la structure réelle de la prolifération qui est à la fois épithéliale et conjonctive. Le mot bryocytose s'applique au contraire à tous les cas, sans préjuger de l'intensité plus grande de la prolifération épithéliale ou conjonctive.

parfait des maladies de ce groupe (Compt. rend. soc. biol. 1903. Déc. et 1904).

Dans la 3. catégorie entrent des maladies dont l'évolution est indéfiniment prolongée. Elles ne se présentent pas avec les caractères infectieux aigus des maladies précédentes: c'est que le processus bryocytique demeure limité au point d'inoculation pour y progresser d'une façon lente mais continue et constituer une néoformation volumineuse. Les lésions cellulaires sont toujours les mêmes: prolifération pure suivie d'hypertrophie sombre puis claire, de plasmolyse, de vacuolisation et de dégénérescence. Et en effet si la néoformation s'accroît ici indéfiniment elle subit néanmoins et comme dans les catégories précédentes, un processus de regression ordinairement lent et qui va du centre vers la périphérie. Ici encore la lésion s'accompagne d'une hypertrophie ganglionnaire qui peut aboutir à la formation d'une néoplasie véritable. Il est à noter enfin que dans certains cas les lésions peuvent présenter un développement rapide et prendre la marche d'une maladie infectieuse aiguë généralisée. Les tumeurs malignes constituent cette catégorie: le cancer présente en effet un accroissement indéfini, mais avec, au bout d'un certain temps, une regression à partir du centre et, dans certains cas, il peut évoluer comme une maladie infectieuse généralisée (carcinose aiguë). Enfin comme les maladies précédentes, il présente une mononucléose légère du sang.

II. Cellules mobiles. — Elles peuvent être soumises à des influences parasitaires de même ordre que les cellules fixes et réagir comme ces dernières, c'est-à-dire donner naissance à des proliférations cellulaires pures avec hypertrophie et dégénérescence consécutives. Mais encore ici il faut tenir compte de la capacité de prolifération de la cellule atteinte: le globule rouge, par exemple, ne possède qu'une capacité de prolifération très restreinte par rapport au globule blanc.

Le globule rouge parasité par des hémotozoaires subira surtout un processus hypertrophique portant sur son protoplasma et (chez les animaux) sur son noyau, puis une dégénérescence progressive. Mais, en dehors du sang, nous trouverons dans la malaria des lésions de prolifération cellulaire qui dépendent réellement de l'hématozoaire et peuvent aboutir à l'adénome et ici encore il existe une légère mononucléose du sang. La malaria a une allure infectieuse aiguë, mais elle évolue par poussées successives et pendant longtemps; maladie bryocytique des cellules mobiles, elle peut être rapprochée, par son évolution, de la syphilis, maladie bryocytique des cellules fixes.

Dans la leucocythémie, les leucocytes mono- ou polynucléaires subissent un processus bryocytique d'une haute intensité: prolifération pure, karyokinétique, suivie d'hypertrophie et de dégénérescence. L'évolution de la néoformation comporte une progression indéfinie qui aboutit à une énorme accumulation de cellules malades de même espèce, de sorte que la leucocythémie, maladie bryocytique des cellules mobiles, est comparable au cancer maladie bryocytique des cellules fixes. La leucocythémie doit donc être considérée comme une néoplasie maligne leucocytaire capable de prendre une allure infectieuse aiguë.

Ainsi donc toutes les maladies bryocytiques, quelle qu'en soit l'apparence symptomatique, sont essentiellement caractérisées par une prolifération cellulaire pure, karyokinétique, portant sur les cellules fixes

ou mobiles, épithéliales, conjonctives, leucocytaires... et capable de constituer des néoformations de type néoplasique. Ce processus dépourvu de tout caractère phlegmasique banal peut présenter une évolution aiguë, subaiguë, chronique avec poussées aiguës, ou bien progressivement indéfinie, avec régression — et cette évolution est en rapport, comme nous le verrons, avec la virulence du parasite, son intensité d'action sur la cellule, son passage dans le sang et l'apparition ou non d'une immunsation.

Le plus souvent, plusieurs espèces cellulaires participeront à l'édification des lésions, mais à des degrés très divers et d'autant plus que la maladie est plus aiguë: ainsi, dans la clavelée ou la variole, la prolifération conjonctivo-vasculaire est presque aussi importante que l'épithéliale, tandis que dans le cancer elle est beaucoup plus réduite et d'autant plus que ce cancer a une marche plus lente.

A la question de la rapidité d'évolution du virus, de la généralisation ou de la localisation des lésions et surtout de la limitation des néoformations à un même type cellulaire, est liée la question controversée des métastases. Lorsque le parasite très virulent et à petites formes abondantes, détruit rapidement les cellules, il est mis en liberté dans les espaces lymphatiques, puis dans le sang. Le milieu sanguin ne paraissant pas favorable à son développement, le parasite se porte rapidement aux épithéliums de la peau et des organes et il les fera proliférer pour leur propre compte; il donnera ainsi naissance à des adénomes ou à des adéno-épithéliomes de la mamelle, du poumon, du rein, du foie: il n'y aura pas de métastase. Au contraire, dans le cancer, la cellule néoplasée vit bien plus longtemps et présente une phase prolongée d'hypernutrition qui permet, avant qu'elle ne dégénère, une très abondante prolifération de cellules jeunes du même type. Cette néoformation sera assez abondante pour offrir aux parasites, au fur et à mesure de leur formation, un milieu de nutrition favorable et elle pourra ainsi les englober tous. En outre, à cette prolifération et aux qualités d'hypernutrition des cellules néoplasiques, s'ajoute la suppression de leur fonctionnalité: ces cellules constituent ainsi un milieu essentiellement favorable à la vie du parasite, un milieu d'attraction forte. Si une de ces cellules en karyokinèse et parasitée est entraînée dans le courant lymphatique, elle proliférera et les cellules qui en résulteront offrant aux parasites qui s'y multiplient, un milieu d'attraction forte qui préserve les tissus voisins de toute atteinte. il se formera une néoplasie du même type que la tumeur d'origine et qui constituera une métastase. La métastase doit donc être définie, comme nous le disions récemment (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903) une greffe de cellules néoplasiques en hypernutrition et parasitées.

Ces proliférations cellulaires néoplasiques sont en rapport direct avec le siège du parasite; leur accroissement est en raison de la pullulation de ce dernier; en dehors d'une légère mononucléose, elles constituent la seule réaction de l'économie devant le virus; enfin leur arrêt d'accroissement et leur régression ne se produisent qu'avec l'apparition de l'immunité: tous ces faits nous amènent à penser que ces proliférations représentent l'unique réaction sérieuse de l'organisme contre le virus, c'est-à-dire qu'elle ont une signification défensive. Si l'on considère que les parasites sont intracellulaires et que la prolifération des cellules

voisines est si intense, il pourrait sembler au contraire que le virus se trouve comme défendu et fortifié, par ces accumulations de cellules, contre tous les moyens de défense de l'économie. Mais l'irritation cellulaire n'a pas seulement une fin utile au parasite qui la provoque; elle doit, comme toutes les réactions de l'économie devant un agent étranger jouer le rôle d'un effort défensif. Et en effet, dans la clavelée, la variole, la vaccine dont les parasites sont assez rapidement nocifs pour les cellules proliférées et où ils peuvent passer dans le sang et produire l'immunité, les néoformations entrent en régression dès que cette immunité se manifeste itaques puis elles disparaissent définitivement. Dans le cancer où aucune immunité ne paraît se produire, la tumeur continue à s'accroître de sorte que l'on peut considérer le cancer comme une pustule d'inoculation à développement indéfini. La prolifération cellulaire joue donc un véritable rôle de défense, de protection, pour le reste de l'organisme.

Ces faits sont de la plus haute importance pour la recherche des méthodes thérapeutiques applicables à ces maladies. Nous avons montré pour la clavelée (Compt. rend. soc. biol. 1902. 26 avril) qu'il était possible de produire l'hémo-immunisation, c'est-à-dire d'immuniser le sang des agneaux les plus sensibles, contre le virus claveléux. Et en effet, si une injection de sérum anticlaveleux faite en même temps que l'inoculation de virus à la peau, permet l'évolution d'une pustule cutanée, elle empêche l'éruption généralisée de se produire¹⁾. Le sérum anticlaveleux a donc une action préventive manifeste; il rend le milieu sanguin réfractaire. Il agit comme le mercure et la quinine, dans la syphilis et la malaria, qui rendent le sang réfractaire au développement des parasites. Mais si l'on veut agir sur des lésions déjà constituées, le sérum anticlaveleux n'a pas d'action curatrice précise: Nous sommes impuissants à guérir, avec certitude, la clavelée, comme nous les sommes pour la syphilis ou la malaria et comme nous le sommes surtout vis-à-vis du cancer. Le sérum anticancéreux que nous expérimentons depuis quatre ans montre, inoculé loin des tumeurs malignes, chez l'homme, une remarquable élection d'action sur ces tumeurs: ils les congestionnent violemment pendant 24 heures, est capable d'amener des transformations kystiques partielles, de réduire le volume de métastases ganglionnaires, de déterger et d'épidermiser des surfaces ulcérées, mais il n'amène pas de guérison et parfois est susceptible de produire des exacerbations du néoplasme.

Le but de nos recherches doit donc être de trouver une méthode qui permette d'atteindre ces virus non seulement dans les proliférations cellulaires où ils pullulent à l'abri mais aussi à travers la capsule hyaline qui les enveloppe et qui leur constitue un moyen de défense comparable à la capsule résistante du bacille tuberculeux. Vouloir s'attaquer aux cellules elles-mêmes de la prolifération ne nous paraît pas logique, car les cellules néoplasiques ne représentent rien de spécifique en dehors des parasites qu'elles renferment; elles ne sont qu'un substratum dépourvu de toute valeur pathogène.

1) Ce procédé constitue la séro-clavelisation que nous avons appliquée avec un succès complet dans la pratique (voir Conte, La lutte contre la clavelée. — Revue vétérinaire. 1904. Avril, mai).

Quelle est la nature du processus bryocytique? Le caractère néoplasique de la prolifération le fait considérer, au premier abord, comme quelque chose de spécial, surtout si on envisage le cancer. Mais dans les bryocytoses aiguës (vaccine, variole, clavelée...), les phénomènes inflammatoires: hyperémie, lésions vasculaires, mononucléose, dégénérescence cellulaire, regression des lésions, — sont très apparents, bien plus que dans le cancer où ils sont voilés. D'autre part, il n'est pas douteux que tout processus inflammatoire comporte une prolifération cellulaire à un degré variable: dans les maladies microbiennes par exemple, cette prolifération porte sur les cellules mobiles (poly ou mononucléaires), ou bien à la fois sur les leucocytes et sur les cellules conjonctives fixes (granulome). Plus la virulence de l'agent pathogène diminue, plus sa vie parasitaire vraie s'affirme et plus la prolifération des cellules fixes devient le caractère important de l'inflammation au point qu'elle se rapproche du type néoplasique (levûres, champignons). Dans les maladies bryocytiques, ce sont des parasites vrais, à développement intracellulaire qui provoquent l'hypernutrition et la prolifération des cellules envahies, épithéliales et conjonctives, avant de les épuiser jusqu'à la mort. Ces réactions cellulaires prolifératrices et hypertrophiques ne constituent qu'une étape, la plus hautement différenciée, il est vrai, du processus inflammatoire; le cancer qui en est l'expression la plus élevée doit donc rentrer dans le cadre des maladies inflammatoires.

Nous avons dit que les agents pathogènes de ces maladies sont des parasites vrais qui se nourrissent et se développent aux dépens des cellules qu'ils envahissent. Nos recherches nous ont montré qu'il faut les faire entrer dans la classe des Protozoaires.

Nous avons décrit dans la clavelée des formes et une structure (C. r. soc. biol. 1963. 17 oct.) qui s'appliquent à ce que les recherches récentes nous ont appris au sujet des protozoaires; nous avons montré que ces parasites n'étaient pas moins nets dans la vaccine (Compt. rend. soc. biol. 1903. 17 oct.) et que dans la variole non seulement on trouvait des formes parasitaires peu résistantes mais qu'il existait, ce qui doit enlever tous les doutes, des formes réellement kystiques et sporulées intranucléaires (Compt. rend. soc. biol. 1903. 23 oct.). D'ailleurs, tous ces parasites, nous l'avons montré, sont comparables, par leurs colorations et leur structure, aux hématozoaires et ceux-ci constituent des Protozoaires indubitables. Les recherches de Negri et les nôtres (Compt. rend. soc. biol. 1903. Nov.) ne nous laissent pas de doute sur la nature parasitaire des inclusions rabiques; d'autre part Löwit a décrit, dans la leucocythémie, un parasite qui évolue dans les leucocytes. Enfin nos récentes publications sur le cancer nous ont permis de mettre en lumière une structure tellement précise, un mode de développement tellement net dans ses phases successives (C. r. soc. biol. 1904. 12 mars) et nous avons pu, enfin, observer, dans des cultures, des formations sporulées et kystiques si indubitables du parasite, que nous ne doutons point qu'elles ne finissent par entraîner enfin la conviction.

Si, d'autre part, on étudie, chez les animaux, des protozoaires non seulement saprophytes mais pathogènes, on voit qu'ils provoquent des proliférations cellulaires pures, épithéliales et conjonctives, de type néoplasique (adénomes, adéno-papillomes, adéno-épithéliomes). Dans ces cas, il ne peut pas y avoir de doute que la marche infectieuse de la maladie et la nature néoplasique des lésions ne soient dûes à la nature

même du parasite, à son habitat intracellulaire, à sa pullulation localisée ou à son passage dans le sang. Notons enfin que de même que chaque sporozoaire a un habitat limité, chaque maladie bryocyttique est spéciale à une espèce animale: la clavelée est spéciale au mouton, la variole et la sphyllis sont spéciales à l'homme, la rage au chien et la vaccine spontanée au cheval.

Dans les mémoires qui vont suivre, nous apporterons tous les arguments qu'on ne peut qu'indiquer succinctement dans les communications aux sociétés savantes. Nous étudierons d'abord la vaccine puis la variole, la fièvre aphteuse, la syphilis, la rage, la malaria, la clavelée et cette dernière nous servira de transition pour aborder l'étude du cancer. Nous terminerons par l'étude de maladies déterminées, chez les animaux, par certains sporozoaires pathogènes.

Nous espérons établir, sur des bases solides, tout un nouveau groupe de maladies ayant des caractères propres, provoquées par des parasites de la classe des protozoaires et dont la connaissance exacte est seule capable de nous conduire à des résultats thérapeutiques.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung des *Bacillus pneumoniae* Friedländer als Erreger von Pneumonie.

[Aus dem städtischen Obuchow-Krankenhaus in St. Petersburg.]

Von Dr. V. B. Stühlern.

Da die Bedeutung des *Bacillus pneumoniae* Friedländer als Erreger von Lungenezündung allgemein zu sehr in den Hintergrund gestellt wird, nehme ich Veranlassung, in Kürze auf diese Frage einzugehen und zugleich einige Beobachtungen anzuführen, die für das Bestehen einer besonderen Form von Pneumonie, die durch den *Bacillus pneumoniae* bedingt wird, zu sprechen scheinen. Im Laufe von 2 Jahren habe ich spezielle bakteriologische Untersuchungen solcher lobärer Pneumonien angestellt, die Abweichungen vom typischen Bilde der gemeinen fibrinösen Pneumonie darboten. Auf 70 solcher klinisch oder anatomisch atypischer Pneumonien fallen 10 Fälle, in denen der Nachweis von Friedländerschen Pneumobacillen in den Lungen geführt werden konnte¹⁾. Von diesen 10 Fällen wurde in 3, wo Genesung eintrat, nur das Sputum nach der etwas modifizierten Methode von Kitasato-Koch²⁾ bakteriologisch untersucht, in einem Falle, der letal verlief, intra vitam das Sputum und post mortem das pneumonische Exsudat, und in den übrigen 6 Fällen, wo die Krankheit gleichfalls zum Tode führte, nur das pneumonische Exsudat.

Außer den Resultaten der bakteriologischen Untersuchung erlaube ich mir ganz kurz auch das pathologisch-anatomische und das klinische Bild dieser 10 Fälle anzuführen, da nur durch Untersuchungen und Be-

1) Die Zahl der jährlich in der Männerabteilung des Krankenhauses zur Aufnahme kommenden Fälle von fibrinöser Pneumonie schwankt zwischen 500—600. Im Jahre 1902 wurden 571 Fälle von gemeiner fibrinöser Pneumonie aufgenommen, die Mortalität betrug 15,4 Proz.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. p. 354. Anm. 4.

obachtungen nach allen Seiten hin die uns interessierende Frage ihrer Beantwortung näher gebracht werden kann.

A. Bakteriologischer Befund.

I. Gruppe. Sputumuntersuchungen der 3 Fälle, in denen Genesung eintrat.

Fall 1. 16-jähr. Kellner. Pneumonia lobaris sin. inf. et lobularis sin. sup. Kritischer Temperaturabfall am 11. Krankheitstage.

Das schleimige, viscide, hämorrhagische Sputum (untersucht am 7. Krankheitstage) ergab in Aussaaten (auf Agar-Agar bei 37°)¹⁾ Kolonien von *Bac. pneum.* Friedl., *Staphylococcus albus* und *Diplococcus lanceolatus*; die Zahl der Kolonien der einzelnen Bakterienarten verhielt sich wie 30:10:3. In Ausstrichpräparaten des Sputum konnten Bacillen, Kokken und Diplokokken nachgewiesen werden; Tuberkelbacillenbefund fiel negativ aus. Nach 2 Tagen wurde die bakteriologische Untersuchung des Sputum wiederholt, wobei das Resultat dasselbe war, wie bei der ersten Untersuchung; nur das quantitative Verhältnis der Kolonien der einzelnen Mikroorganismenarten war ein etwas anderes, wobei aber der *Bacillus pneum.* an erster Stelle blieb. Die Sputumuntersuchungen wurden noch 3mal wiederholt und ergaben nur Kolonien von *Bacillus pneum.* Nach subkutaner Injektion von 0,5 und 0,3 ccm 24-stündiger Bouillonkultur dieses *Bacillus* gingen weiße Mäuse innerhalb 24 Stunden ein.

Fall 2. 20-jähr. Tagelöhner. Pneumonia lobaris dextra sup. Lytischer Temperaturabfall vom 11. Krankheitstage an.

Im schleimig-eitrigen, viscidem, braungefärbten Sputum wurden durch Kulturverfahren (am 8. Krankheitstage) *Diplococcus lanc.* und *Bacillus pneum.* nachgewiesen. Das quantitative Verhältnis der ersten Bakterienart zur zweiten war 50:30. Für weiße Mäuse war der *Bac. pneum.* pathogen, ebenso wie im Falle 1. Bei Wiederholung der Sputumuntersuchung wurden dieselben Mikroorganismen erhalten. Quantitativ prävalierte in diesem Falle der *Diplococcus lanc.*

Fall 3. 45-jähr. Tischler. Pneumonia lobaris dextra med. et lobularis dext. inf. et super. Wellenförmige Temperaturkurve mit dreimaliger Apyrexie.

Aussaaten des eitrigen, viscidem, hämorrhagischen Sputum ergaben Kolonien von *Bacillus pneum.*, *Staphylococcus albus* und *Diplococcus lanc.* (30:10:4). Bei Wiederholung der Sputumuntersuchung wurden dieselben 3 Bakterienarten erhalten. Die Pathogenität des *Bacillus pneum.* war für weiße Mäuse dieselbe wie im Falle 1. Quantitativ prävalierte in diesem Falle, ebenso wie im Falle 1, der *Bacillus pneum.*

II. Gruppe. Untersuchungen des pneumonischen Exsudates der 7 Fälle, in denen Exitus letalis eintrat²⁾.

Fall 4. 47-jähr. Maler. Pneumonia totalis dext. Lytischer Temperaturabfall. Am 10. Krankheitstage Exitus letalis.

In Aussaaten des schleimig-eitrigen, ockerfarbenen, viscidem Sputum wurden Kolonien des *Diplococcus lanc.* und *Bacillus pneum.* erhalten (15:10).

1) Dasselbe gilt für die Sputum- und Lungenexsudatuntersuchungen in allen 10 Fällen.

2) Die Leicheneröffnung wurde 12—23 Stunden post mortem ausgeführt.

Die bakteriologische Untersuchung des schleimigen hämorrhagischen Lungenexsudates ergab Kolonien des *Bacillus pneum.* und *Diplococcus lanceol.* (100:25).

In Sputumausaaten prävalierte in diesem Falle der *Diplococcus lanc.*, während aus dem pneumonischen Exsudate (post mortem) der *Bacillus pneum.* zahlreichere Kolonien gab.

Die Pathogenität des *Bacillus pneum.* war für weiße Mäuse dieselbe, wie in den anderen Fällen.

Fall 5. 48-jähr. Fuhrmann. Delirium. Lytischer Temperaturabfall. Exitus am 4. Tage nach der Aufnahme ins Krankenhaus (bei 37,0°).

Die Sektion wurde von Prof. A. Moisejew¹⁾ ausgeführt und ergab folgendes: Hypertrophia cordis gradus med. Pleuropneumonia fibrinosa ac. lobaris sin. inferior. Pleuritis chron. fibrosa dextra. Pneumonia fibrinosa ac. lobul. dextra sup. Anaemia et hyperplasia chron. lienis gradus parvi. Infiltratio adiposa et cirrhosis incip. hepatis. Nephritis chron. interst. diffusa.

Auszug aus dem Sektionsprotokoll (Prof. A. Moisejew) über die Veränderungen in den Lungen:

Der linke Lungenlappen war voluminös, infiltriert, die Pleura war mit fibrinösen Auflagerungen bedeckt, die mit der Thoraxwand locker verklebt waren. Die Schnittfläche dieses Lappens war grau-rötlich gefärbt, fleischig, grob, aber nicht deutlich knotig und ließ trübe, schleimige, viscide, luftleere, fadenziehende Flüssigkeit in großen Massen hervortreten, die einzelne fibrinöse Alveolarpröpfchen enthielt. Im vorderen Teil dieses Lappens befand sich ein Erweichungsherd, der gänsecigroß war und dunkelrote viscide Flüssigkeit enthielt. Im rechten Lungenoberlappen waren multiple Hepatisationsherde zerstreut, die die Größe einer Haselnuß bis zu einem Taubenei hatten; die Herde sahen grau-rot aus, ragten etwas über das normale Lungengewebe hervor und waren grobkörnig.

Aus dem hämorrhagischen, viscidem Infiltrat des hepatisierten linken Lungenunterlappens wurde der *Bacillus pneumoniae* in Reinkultur erhalten. — 0,3 ccm des pneumonischen Exsudates aus diesem Lungenlappen wurde einem Kaninchen subkutan injiziert; das Tier starb am 6. Tage. Bei der Sektion wurde an der Impfungsstelle ein Absceß konstatiert, aus dessen Eiter Kolonien von *Staphylococcus pyogenes aureus* erhalten wurden. Diplokokkenseptikämie konnte beim Kaninchen nicht nachgewiesen werden.

Die Pathogenität des *Bacillus Friedl.* für weiße Mäuse war in diesem Falle dieselbe, wie im Falle 1. Bouillonkulturen des *Bacillus pneum.*, subkutan injiziert, waren für Kaninchen nicht pathogen.

In diesem Falle lag eine Mischinfektion von *Bacillus pneum.* mit *Staphylococcus pyog. aureus* vor. Der Nachweis von *Diplococcus lanceolatus* gelang weder durch Kulturverfahren, noch durch das Tierexperiment.

Fall 6. 34-jähr. Fabrikarbeiterin. Delirium. Lytischer Temperaturabfall. Exitus am 4. Tage nach Aufnahme ins Krankenhaus (bei t°—37,0°). Sputum hämorrhagisch.

Sektionsprotokoll (Prof. A. Moisejew):

Degeneratio parenchym. cordis. Pleuropneumonia fibrin. ac. lobaris sin. superior. Pneumonia fibrin. ac. sin. et dextra inf. lobularis. Anaemia lienis. Infiltratio adiposa et cirrhosis hepatis incipiens. Nephritis interst. chron. diffusa. Colitis ac. catarrhalis. Gastritis cat. chron.

1) Für die freundliche Erlaubnis, die Sektionsprotokolle anzuführen, spreche ich Herrn Prof. A. Moisejew meinen besten Dank aus.

Auszug aus dem Protokoll über die Veränderungen in den Lungen.

Der linke Lungenoberlappen voluminös; die Schnittfläche war nicht deutlich körnig, stellenweise grau-rot, stellenweise dunkelrot, und ließ trübe, schleimige, viscido, blutrote Flüssigkeit hervortreten. Auf der Pleura fibrinös-eitrige Auflagerungen, die sich leicht abschaben ließen. Unter der Pleura, auf der vorderen Oberfläche unten befand sich ein wallnußgroßer Erweichungsherd, der keine selbständigen Wandungen hatte und blutrote Flüssigkeit enthielt. Die Lungenunterlappen enthielten multiple lobuläre Hepatisationsherde, deren Schnittfläche ebenfalls undeutlich körnig war und viscido, schleimige Flüssigkeit mit fibrinösen Alveolarpröpfchen hervortreten ließ.

Die Aussaaten des visciden, hämorrhagischen Infiltrates des hepatisierten linken Lungenoberlappens ergaben zahlreiche Kolonien des *Bacillus pneumoniae*.

0,2 ccm des pneumonischen Exsudates, einem Kaninchen subkutan injiziert, führten am 5. Tage den Tod des Tieres herbei.

Aus dem Herzblute des Kaninchens wurde der *Diplococcus lanc.* in Reinkultur erhalten.

In diesem Falle lag also eine Mischinfektion der Lunge vor durch *Bacillus pneum.* mit *Diplococcus lanc.* vor, wobei quantitativ der erstere prävalierte. Es ist schon von Prof. A. Fraenkel (9) darauf hingewiesen worden, daß der *Bacillus Friedländer* den *Diplococcus lanc.* in Kulturen überwuchert und letzteren sogar gar nicht aufkommen lassen kann. Dasselbe sehen wir in diesem Falle, wo der *Diplococcus lanc.* in Kulturen nicht nachzuweisen war, während er im Lungenexsudate doch vorhanden war, wie es das Tierexperiment zeigte.

Die Pathogenität für weiße Mäuse und Kaninchen war dieselbe wie oben (Fall 1 und 5).

Fall 7. 47jähr. Schuhmacher. Sputum hämorrhagisch. Delirium. Temperatur subfebril. Exitus am 8. Krankheitstage.

Sektionsprotokoll (Prof. A. Moisejew). Degeneratio parenchym. cordis. Pleuropneumonia ac. lobaris sin. inferior et pneumonia lobularis ac. dextra. Hyperaemia venosa lienis et hepatis. Degener. parench. recens.

Auszug aus dem Protokoll über die Veränderungen der Lungen.

Der linke Lungenlappen voluminös, gleichmäßig infiltriert. Die Pleura war mit fibrinös-eitrigen Auflagerungen bedeckt. Die Schnittfläche war stellenweise grau, stellenweise dunkelrot und ließ klebrige, schleimige, hämorrhagische Flüssigkeit in großen Massen hervortreten. Die rechte Lunge enthielt multiple Hepatisationsherde, die dieselben Eigenschaften aufwiesen wie die lobäre Hepatisation in der linken Lunge. Diese Herde waren haselnuß- bis wallnußgroß.

In Ausstrichpräparaten des pneumonischen Infiltrates aus dem linken Lungenlappen wurde der *Bacillus pneum.* und *Diplococcus lanc.* nachgewiesen. Das viscido, klebrige, hämorrhagische Exsudat ergab in Aussaaten nur Kolonien des *Bacillus pneumoniae* in großer Anzahl.

Um die Frage zu entscheiden, ob in den frischen, kleinen Hepatisationsherden der rechten Lunge auch eine Mischinfektion vorlag, wurde das Exsudat dieser Herde einem Kaninchen subkutan injiziert. Das Tier blieb gesund.

„Dieses Experiment zeigt, sagt Prof. H. Moisejew (1), daß die pneumonische Hepatisation in der einen Lunge durch gemeinsame Einwirkung des *Bacillus pneumoniae* und *Diplococcus lanc.* hervorgerufen sein kann, und in der anderen Lunge nur den *Bacillus pneum.* als Erreger haben kann.“

Die Untersuchung dieses Falles, die von Prof. A. Moisejew ausgeführt wurde, zeigte in der linken Lunge eine Mischinfektion von

Bacillus pneum. mit *Diplococcus lanc.*; die Hepatisationsherde der rechten Lunge waren augenscheinlich nur durch den *Bacillus pneumon.* hervorgerufen.

Fall 8. 38-jähr. Bauersfrau. Lytischer Temperaturabfall. Exitus (bei t° —37,3°) am 4. Tage nach Aufnahme ins Krankenhaus. Sputum hämorrhagisch.

Die Sektion wurde von Prof. A. Moisejew ausgeführt und ergab folgendes: Degeneratio parenchym. cordis. Pneumonia chron. interst. tuberculosa circumscripta dextra superior. Pleuritis acuta fibrinosa sin. Pneumonia lobularis et pseudolobaris acuta sinistra. Hyperplasia chron. lienis gradus parvi. Infiltratio adiposa hepatis. Nephritis chron. interst. (atrophia granularis renum). Colitis chron. catarrhalis.

Auszug aus dem Sektionsprotokoll (Prof. A. Moisejew) über die Veränderungen in der linken Lunge.

Die linke Lunge war voluminös; die Pleura mit fibrinös-eitrigen, sich leicht ablösenden Auflagerungen bedeckt. Die Schnittfläche der linken Lunge enthielt multiple hervortretende Hepatisationsherde, die erbsen- bis mandarinengroß waren; die kleineren Herde waren grau, die größeren im Centrum dunkelrot und erweicht, an der Peripherie grau. Die Schnittfläche war schwach körnig und ließ gelatinöse, schleimige, hämorrhagische Flüssigkeit hervortreten.

Die Untersuchung dieses Falles, die von Prof. A. Moisejew ausgeführt wurde, ergab im pneumonischen Exsudate der linken Lunge das Vorhandensein des *Bacillus pneum.* in Reinkultur. Das Kaninchen zeigte sich refraktär gegen die Impfung mit dem Lungenexsudate.

Fall 9. 61-jähr. Fabrikarbeiterin. Subfebrile Temperatur. Sputum hämorrhagisch. Exitus (bei t° —36,7°) am 6. Tage nach Aufnahme ins Krankenhaus.

Sektionsprotokoll (Prof. A. Moisejew): Hypertrophia ventriculi sin. cordis. Pleuropneumonia fibrin. ac. dextra. Atrophia simplex lienis et hepatis, Nephritis chron. interstitialis. Colitis catarrhalis ac.

Auszug aus dem Protokoll über die Veränderungen in den Lungen.

Der obere und mittlere Lappen der rechten Lunge waren voluminös. Die Schnittfläche war nicht deutlich körnig, dunkelrot und ließ massenhaft klebrige, viscid, hämorrhagische Flüssigkeit hervortreten. Im rechten Lungenlappen befand sich noch ein Erweichungsherd, der hühnereigroß war und trübe, hämorrhagische Flüssigkeit mit dunkelroten Blutgerinnseln enthielt.

Aus dem Lungenexsudate wurde von Prof. Moisejew der *Bacillus pneum.* in Reinkultur gezüchtet. Das Exsudat war für Kaninchen nicht pathogen.

Fall 10. 50-jähr. Händler. Sputum hämorrhagisch. Delirium. Temperatur schwankte zwischen 39—40°, Exitus am 12. Krankheitstage bei t° —40°).

Sektionsprotokoll (Dr. L. Krewer): Degeneratio parenchym. et adiposa musculi cordis. Pleuropneumonia fibrinosa ac. lobaris sin. inf. (Hepatisatio grisea cum suppuratione et malacia rubra circumscripta. Pneumonia interst. chron. tuberculosa apicis pulmonis utriusque. Hyperaemia venosa et emphysema pulmonis dextri. Anaemia lienis. Degeneratio parench. hepatis et renum. Colitis catarrh. chron. Gastritis cat. chron.

Auszug aus dem Protokoll über die Veränderungen in der linken Lunge.

Der linke Lungenunterlappen sehr voluminös; die Pleura war mit grau-gelblichen Auflagerungen bedeckt, die sich leicht ablösen ließen. Das Lungengewebewar infiltriert, die Schnittfläche war grau-weiß und körnig, mit Ausnahme eines handflächengroßen Bezirkes, der rot gefärbt und erweicht war. Im Centrum waren hier zwei haselnußgroße Höhlen vorhanden. Die Schnittfläche der grauen Hepatisation ließ dick-

flüssiges, eitriges Exsudat hervortreten, während die erweichte, rote Partie der Lunge trübe, schleimige, fadenziehende, hämorrhagische Flüssigkeit absonderte, die fest am Messer klebte.

In den aus der roten und grauen Hepatisation angelegten Kulturen wurden nur Kolonien des *Bacillus pneumoniae* erhalten. In Ausstrichpräparaten des Exsudates konnten neben Kapselbacillen auch einzelne Diplokokken wahrgenommen werden. Die subkutane Impfung mit dem Exsudate aus der grauen Hepatisation gab beim Kaninchen ein negatives Resultat. In Lungenschnitten stellten sich die Alveolen von zahlreichen Bacillen durchsetzt dar.

Die Pathogenität des *Bacillus pneum.* war für weiße Mäuse dieselbe wie im Falle 1.

Kaninchen zeigten sich vollkommen refraktär gegen subkutane Impfung mit Bouillonkulturen dieses Bacillus.

In diesem Falle lag eine Mischinfektion von *Bacillus pneum.* mit *Diplococcus lanc.* vor, wobei letzterer seine Lebensfähigkeit und Virulenz vollständig (am 12. Krankheitstage) eingebüßt hatte.

Fassen wir nun die Resultate der bakteriologischen Untersuchung der angeführten 10 Fälle kurz zusammen, so ergibt es sich, daß 5mal (Fall 2, 4, 6, 7, 10) eine Mischinfektion von *Bacillus pneum.* mit *Diplococcus lanc.* vorlag. 3mal konnte der *Bacillus pneum.* allein, ohne andere Mikroorganismen in den Lungen konstatiert werden (Fall 7, 8, 9); 2mal wurden in Kulturen aus dem Sputum 3 Bakterienarten (*Bac. pneum.*, *Diplococcus lanc.* und *Staphyl. pyog. alb.*) gezüchtet (Fall 1, 3), endlich einmal enthielt das Lungenexsudat Pneumoniebacillen und *Staphylococcus pyogenes aureus* (Fall 5). Fast in allen Fällen, wo es sich um eine Mischinfektion der Lungen handelte, prävalierte quantitativ der *Bacillus pneum.* Besonders interessant ist der Fall 7; hier war die lobäre Hepatisation des linken Lungenunterlappens durch den *Bacillus pneum.* und den *Diplococcus lanc.* bedingt, während die lobulären Hepatisationsherde der rechten Lunge nur durch den *Bacillus pneum.* hervorgerufen zu sein schienen.

Die morphologischen und biologischen Eigenschaften des *Bacillus pneumoniae* Friedländer waren in allen 10 Fällen dieselben. Die Bakterien hatten die Form von einzel oder paarweise aneinander gefügten Stäbchen; nur selten bildeten sie (im flüssigen Nährboden) längere Fäden. Sie waren fast immer von einer breiten und gut färbbaren Kapsel umgeben. Sie entfärbten sich nach dem Gramschen Verfahren; nur in Ausstrichpräparaten des Blutes infizierter weißer Mäuse blieben sie nach Gram schwach gefärbt, wo sie häufig eine runde oder ovale Form aufwiesen. Im hängenden Tropfen besaßen die Stäbchen keine Eigenbewegung. Sie wuchsen auf allen flüssigen und festen Nährböden bei Brut- und Zimmertemperatur. Der Impfstich in Gelatine gab regelmäßig die typische Nagelkultur mit porzellanartigem Knöpfchen, wobei keine Gasbildung wahrzunehmen war. Milch wurde durch die Bacillen nicht zum Gerinnen gebracht. Auf Kartoffel und in Zuckeragarstichkultur war das Wachstum der Bacillen von üppiger Gasbildung begleitet. Bei der Züchtung in Bouillon gaben die Bacillen zu allgemeiner Trübung Veranlassung, wobei der Nährboden schleimig wurde und die Oberfläche sich mit einem deutlich ausgeprägten Häutchen überzog.

Die subkutane Injektion von Bouillonkulturen des *Bacillus* tötete weiße Mäuse innerhalb 24 Stunden. Aus dem Herzblute und den inneren

Organen der Tiere wurden jedesmal Reinkulturen des injizierten *Bacillus* erhalten. Kaninchen zeigten sich gegen subkutane Injektion vollkommen refraktär.

In allen 10 Fällen hatten die gewonnenen Bacillen dieselben morphologischen und biologischen Eigenschaften, unabhängig davon, ob sie aus dem Sputum oder aus dem Lungenexsudate gezüchtet waren.

Die oben angeführte Charakteristik der Stäbchen läßt darauf schließen, daß in allen Fällen ein und dieselbe Bacillenart vorlag, und zwar der typische *Bacillus pneumoniae* Friedländer. Ich will hier nur erwähnen, daß es außer dem typischen *Bacillus pneum.* Friedländer eine ganze Reihe von Kapselbacillen giebt, die als *Bacillus mucosus capsulatus*, *Bacillus pneumoniae capsulatus*, neue Kapselbacillen, Kapselbacillen, Schleimbild. Bacillen etc. in der einschlägigen Literatur bekannt sind und sich von einander entweder durch ihre morphologischen oder ihre biologischen Eigenschaften nicht sehr wesentlich unterscheiden. Nach Fricke (2) und de Simoni (3) gehören diese Varietäten zur Gruppe des *Bacillus mucosus capsulatus*, als deren Hauptstamm der *Bacillus pneumoniae* Friedländer anzusehen ist.

B. Pathologisch-anatomischer Befund¹⁾.

Das makroskopische und mikroskopische Bild der Fälle 5—9 ist von Prof. A. Moisejew (1) in seiner Arbeit „Zur pathologischen Anatomie und Histologie der Friedländerschen Pneumonie“ (russisch) beschrieben worden. Im folgenden erlaube ich mir kurz das wesentlichste aus dieser Arbeit, und zwar in Auszügen anzuführen: „Die Lungenentzündungen, die durch den *Bacillus pneumoniae* hervorgerufen werden, sagt Prof. A. Moisejew, äußern sich durch solche anatomische Besonderheiten, daß es berechtigt scheint, sie in eine besondere Gruppe auszuscheiden.“

Das makroskopische Bild dieser Pneumonie wird von Prof. A. Moisejew folgendermaßen charakterisiert: 1) Fast in allen Fällen finden sich sekundäre kleine Hepatisationsherde; 2) die Entzündung hat einen ausgesprochen hämorrhagischen Charakter, wobei sich im Centrum der Hepatisation oft Erweichungsherde vorfinden; 3) das pneumonische Exsudat ist viscido und klebrig; 4) die Schnittfläche ist nicht deutlich körnig und hat einen besonderen Geruch, der an angebranntes frisches Fleisch erinnert.

Die histologischen Untersuchungen von Prof. A. Moisejew ergaben folgendes: Die lobäre Hepatisation scheint durch das Konfluieren einzelner lobulärer Herde gebildet zu sein. Die Alveolen enthalten homogene, schwach körnige Massen, sehr viel Bacillen, einzelne Leukocyten und Epithelzellen; vereinzelt findet man Alveolen, die Fibrin enthalten. Die Gefäße der Alveolarsepten sind mit Blut überfüllt, besonders an der Peripherie der Hepatisation, wo sich auch einzelne mit Blut gefüllte Alveolen vorfinden. Die Bronchioli enthalten gleichfalls Bacillen. Die Besonderheit des pathologischen Prozesses gipfelt darin, daß die Infiltration der Lungen nicht nur durch zelliges und zellig-fibrinöses Exsudat, sondern hauptsächlich durch die Bakterien selbst und ihre Schleimprodukte hervorgerufen wird.

1) Die einzelnen Sektionsprotokolle (von Prof. A. Moisejew und teilweise von Dr. L. Krewer) sind bei den Fällen 5—10 angeführt.

Prof. A. Moisejew führt folgende Besonderheiten an, die diese Pneumonie von der gemeinen fibrinösen unterscheiden:

1) „Im Anfangsstadium ist die Hepatisation nicht allein durch dies Alveolenexsudat bedingt, sondern, und zwar hauptsächlich, durch die Friedländerschen Bacillen; diese letzteren vermehren sich schnell und bilden in großen Massen Schleimprodukte, welche das Lungengewebe infiltrieren. Die Zahl der Fibrinpfropfen ist gering. Eine Hepatisatio rubra im Sinne der genuinen fibrinösen Pneumonie scheint bei dieser Lungenentzündung nicht vorzukommen und die pneumonischen Herde zeigen schon im Anfangsstadium das Bild einer Hepatisatio grisea.“

2) „Im weiteren Stadium der Entzündung, welches der grauen Hepatisation der genuinen fibrinösen Pneumonie entspricht, werden die Leukocyten im Exsudate zahlreicher angetroffen, jedoch hat es den Anschein, daß die Schleim- und Bakterienmassen das Emigrieren der Leukocyten in die Alveolen erschweren; die Leukocyten lagern sich gruppenweise nur an den Alveolarwandungen und infiltrieren die Alveolarsepten“.

3) „Das letzte Stadium wird durch den hämorrhagischen Charakter der Hepatisation gekennzeichnet.“

4) „Tritt Thrombose der Blutgefäße hinzu, so kommt es zu Gewebsnekrose mit nachfolgender Hämorrhagie und Höhlenbildung. Für diesen Ausgang scheinen bei der Friedländerschen Pneumonie besonders günstige Bedingungen vorhanden zu sein.“

C. Klinisches Bild.

Der Anfang der Krankheit und die Lungenerscheinungen unterschieden sich nicht von denen der genuinen fibrinösen Pneumonie. Die Erkrankung setzte gewöhnlich mit Schüttelfrost ein und wurde meist von Schnupfen begleitet. Herpes labialis oder nasalis ist nur 3mal beobachtet worden (Fall 1, 3, 4). Bei der Perkussion der Brust ließ die Dämpfung sich meist über einem ganzen Lungenlappen nachweisen. Im Bereich der Dämpfung konnte gewöhnlich abgeschwächtes Bronchialatmen konstatiert werden, wobei nicht selten Knisterrasseln gänzlich fehlte. Der Krankheitsverlauf war ein sehr schwerer und wurde von Delirien begleitet. Von 10 Fällen endigten 7 letal. In den 3 Fällen, in denen Genesung eintrat, konnten im Venenblute Bacillen nicht nachgewiesen werden. Das Sputum war viscido und hämorrhagisch. Die Temperatur war im Anfang immer erhöht und fiel öfter lytisch ab; eine typische Krisis konnte nur 1mal beobachtet werden (Fall 1). Der Exitus letalis trat gewöhnlich in der Apyrexie ein. Die Entzündung war meist lobär oder pseudolobär und wurde sehr oft von sekundären lobulären Verdichtungsherden begleitet.

Fassen wir nun das einheitlich zusammen, was uns der bakteriologische, anatomische und zum Teil auch der klinische Befund ergeben haben, so müssen wir zu der Schlußfolgerung kommen, daß diese 10 Fälle sich sowohl von der genuinen fibrinösen, wie auch von der katarrhischen Pneumonie nicht unwesentlich unterscheiden und als Fälle einer

atypischen Pneumonie anzusehen sind. Da der *Bacillus pneumoniae* Friedländer dieser Form der Lungenentzündung das charakteristische Gepräge zu verleihen scheint, so ist die Benennung „Bronchopneumonie à bacille capsule“ (Netter [4]) und „Friedländerische Pneumonie“ (A. Moisejew [1]) mit vollem Rechte gewählt worden, da der *Bacillus pneumoniae* als Erreger der Entzündung eine nicht geringe Bedeutung hat, wie es die histologischen Untersuchungen von Prof. A. Moisejew gezeigt haben.

Wenden wir uns zu der Betrachtung der Literatur der uns interessierenden Frage, so sehen wir, daß viele Autoren diese Form der Lungenentzündung entweder gar nicht oder zu wenig berücksichtigen. Vor allem möchte ich es nicht unerwähnt lassen, daß Prof. A. Fraenkel (5) der Entdecker des *Diplococcus lanceolatus* und verdienstvolle Forscher auf dem Gebiete der akuten Lungenentzündungen, in seiner „Speziellen Pathologie und Therapie der Lungenkrankheiten“. 1904. p. 391 den *Bacillus pneumoniae* als „vermeintlichen Erreger fibrinöser Pneumonie“ bezeichnet, seiner aber als Erreger anderer Pneumonieformen nicht gedenkt. Auf p. 393 sagt Prof. A. Fraenkel: „Es ist zweifellos, daß der erwähnte *Bacillus* öfter erst sekundär in das Infiltrat gelangt, und ebenso begreiflich, daß er gerade infolge seines üppigen Wachstums besonders leicht die sich entgegengesetzt verhaltenden Pneumokokken zu überwuchern vermag.“

„Daß außer dem *Pneumococcus* auch andere Mikroorganismen lobäre Infiltrationen des Lungenparenchyms zu bewirken vermögen, darf als wahrscheinlich angesehen werden, wiewohl der strikte Beweis in den betreffenden Fällen meist schwer zu führen ist.“ Diese Worte Prof. A. Fraenkels (p. 392) haben mir Veranlassung gegeben, die Untersuchungen von Prof. A. Moisejew (1) und meine Beobachtungen (6), die bis jetzt nur in der russischen Literatur publiziert worden sind, einem größeren Leserkreise zugänglich zu machen, um die alte Frage über die Bedeutung des *Bacillus pneumoniae* als Erreger von Pneumonie wieder ins Leben zu rufen.

Es ist doch gewiß nicht ein Spiel des Zufalles, daß eine ganze Reihe von Forschern den *Bacillus pneumoniae* bei Pneumonie gefunden haben. Vom Jahre 1883, als C. Friedländer (7) zuerst seinen *Bacillus* 6mal bei lobärer Pneumonie in Reinkultur erhalten hatte, bis zur letzten Zeit finden sich in der einschlägigen Literatur über 50 Arbeiten, in denen der Befund von *Pneumobacillen* bei Lungenentzündung verzeichnet ist. Es würde uns zu weit führen, auf diese Arbeiten hier einzugehen. Ich will nur einige kurz anführen, in denen neben dem bakteriologischen Befunde auch das pathologisch-anatomische Bild der Pneumonie berücksichtigt worden ist, was, meiner Meinung nach, für die uns interessierende Frage von größter Bedeutung ist.

Auf 129 Pneumoniefälle konnte Weichselbaum (8) den *Bacillus pneumoniae* in 6 Fällen mittelst Kulturverfahrens nachweisen; 3mal handelte es sich um eine Mischinfektion und 3mal war der *Bacillus* in Reinkultur in den Lungen vorhanden. In dieser Arbeit Weichselbaums (vom Jahre 1886) finden wir die Angabe, daß die Pneumonien, in denen der *Bacillus pneumoniae* im Lungenexsudate nachgewiesen werden konnte, sich durch besonders schweren Verlauf auszeichneten. Anatomisch war für diese Fälle die Viscidität des Lungensaftes charakteristisch, so daß Weichselbaum auf Grund dieser Eigenschaft während der Sektion das Vorhandensein des *Bacillus pneum.*

in den Lungen vorhersagen konnte. Weichselbaum schreibt (p. 542): „Das pneumonische Virus ist kein einheitliches, jedoch nicht in dem Sinne, daß es infektiöse und nicht infektiöse Pneumonien gibt, sondern in der Bedeutung, das die akuten Lungenentzündungen, auch die genuine krupöse Pneumonie, durch mehrere Arten von Spaltpilzen hervorgerufen werden kann.“

In den Arbeiten von Prof. A. Fraenkel (vom Jahre 1886 und 1904) (9) finden sich 2 Fälle verzeichnet, in denen der *Bacillus pneumoniae* neben dem *Diplococcus lanc.* im pneumonischen Lungenexsudate bakteriologisch nachgewiesen werden konnte. In beiden Fällen handelte es sich um fibrinöse Pneumonie; quantitativ prävalierte der *Bacillus*. In einem von diesen 2 Fällen bot das makro- und mikroskopische Bild der Pneumonie keine besondere Abweichung von der typischen fibrinösen Pneumonie, außer dem Umstande, daß der Inhalt der Alveolen von zahlreichen Stäbchen durchsetzt war.

In der Arbeit von Netter (4) (vom Jahre 1892) finden wir eine verhältnismäßig genaue Charakteristik der Pneumonie, die durch den Friedländerschen *Bacillus pneumoniae* hervorgerufen wird. Auf 53 Fälle hat dieser Autor 9mal den „*Bacille encapsulé* de Friedländer“ in den Lungen in Reinkultur nachweisen können und 3mal in Mischinfektion mit anderen Mikroorganismen. Netter charakterisiert die Pneumonie, die durch den *Bacillus pneum.* bedingt ist, folgendermaßen (p. 42): „Les Broncho-pneumonies déterminées par ce microbe ont les caractères les plus différenciés: elles sont le plus souvent à gros noyaux et 5 fois elles étaient pseudolobaires. Les parties hépatisées ont acquis dont cette variété une grande augmentation de volume. Elles ont une teinte grisâtre. Le suc qui s'écoule de la surface de section n'est pas seulement visqueux, il est filant, et ce caractère permet de prévoir souvent la nature des microbes. Le poumon dans ces formes a souvent une odeur sulfurée spéciale.“

In einer anderen Arbeit schreibt Netter (10), daß er in 13 Fällen von Friedländerscher Pneumonie 5mal die Diagnose *intra vitam* stellen konnte. „In diesen 5 Fällen expektorierten die Patienten viscidos Sputum, in welchem die bakterioskopische Untersuchung das Vorhandensein von Friedländerschen Bacillen zeigte. In diesen Fällen war das Sputum dicht (épais) und klebrig (adhérent) und ließ sich in Faden ziehen (filant). 4mal war der Auswurf außerdem hämorrhagisch (rouillé).“ Netter erwähnt noch, daß die gewöhnliche Form dieser Pneumonie die pseudolobäre ist, daß die Lungenerscheinungen deutlich ausgeprägt sind und die Krankheit sehr schwer verläuft und fast immer zum Tode führt; nur in einem Falle trat Genesung ein.

In der Arbeit von Etienne (vom Jahre 1895) (11) sind 2 Fälle angeführt, die als Friedländersche Pneumonie angesprochen werden müssen. In dem einen Falle war das Sputum hämorrhagisch, viscido, die Pneumonie lobär und imponierte klinisch als Wanderpneumonie. Die Sektion ergab: Bronchopneumonia pseudolobaris, Pleuritis purulenta, Meningitis purul., Pericarditis serosa, Arthritis purulenta articulationis humeri dext. et genu sin. Die Aussaaten des pneumonischen und meningalen Exsudates der Flüssigkeit aus dem Pericardium und dem Kniegelenke ergaben Reinkulturen des *Bacillus pneum.* Im 2. Falle handelte es sich um Bronchopneumonia pseudolobaris sin., Pleuritis et pericarditis purulenta, abscessus regionis cruralis. Die bakterioskopische Untersuchung zeigte den *Bacillus pneum.* im

Pleura- und Lungenexsudate, im Eiter des Abscesses und im Exsudate der Pericarditis. Die aus der Milz angelegten Kulturen ergaben nur Kolonien des *Bacillus pneumoniae*.

Rispa1 (12) und Eppinger (13) berichten über Fälle von lobärer Pneumonie, die durch den Friedländerschen *Bacillus* hervorgerufen zu sein scheinen.

Im Jahre 1898 ist von amerikanischen Forschern eine ganze Reihe von Fällen von Friedländerscher Pneumonie beschrieben worden. So berichtet Smith (14) über einen Pneumoniefall mit Septikämie, in welchem die bakteriologische Untersuchung des Blutes, des Lungenexsudates, der Milz, der Nieren und der Leber den *Bacillus mucosus capsulatus* (*Bacillus* Friedländer) ergab. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Lungen konnten im Infiltrate der Alveolen und Bronchien Stäbchen in großer Anzahl konstatiert werden. Auch Howard (15) konnte in 3 Fällen von Pneumonie den *Bacillus* Friedländer in den Lungen bakteriologisch nachweisen. Curry (16) beschreibt mehrere Fälle von Pneumonie, in denen der *Bacillus* Friedländer in Mischinfektion in den Lungen vorhanden war. Die mikroskopische Untersuchung der Lungen zeigte in einem Falle in den Alveolen den *Diplococcus* und in den Bronchien den *Bacillus*.

Einen interessanten Fall von „atypischer Pneumonie“ hat Rosenthal (17) im Jahre 1898 beschrieben. Es handelte sich hier um eine lobäre Pneumonie des rechten mittleren und unteren Lungenlappens und um lobuläre Hepatisationsherde im linken Lungenunterlappen und im rechten Lungenoberlappen. Außerdem ergab die Sektion noch doppelseitige fibrinöse Pleuritis, eine Endocarditis und hämorrhagische Meningitis. Die Schnittfläche der rechten Lunge war glatt, stellenweise schmutzig-grau, stellenweise rot und ließ trübe schleimig-eitrige, hämorrhagische Flüssigkeit hervortreten. Die Aussaaten des Lungenexsudates ergaben Kolonien des *Bacillus* Friedländer und eines Coccus, der nicht näher bestimmt werden konnte. Die mikroskopische Untersuchung zeigte in den Lungen Stäbchen und Kokken.

L. Beco (18) konnte im Jahre 1899 in einem Falle von *Pneumonia totalis sinistra* am 5. Krankheitstage den *Bacillus* Friedländer im Blute bakteriologisch nachweisen. Bei der Sektion dieses Falles ließ die Schnittfläche der hepatisierten linken Lunge klebriges, viscoses Exsudat hervortreten. Aus der Lunge, dem Herzblute, der Leber, der Milz und den Nieren wurde der *Bacillus* Friedländer in Reinkultur gezüchtet.

Im Jahre 1900 hat Aufrecht (19) einen interessanten Fall von atypischer Pneumonie beschrieben, deren makro- und mikroskopisches Bild der Friedländerschen Pneumonie entspricht. Leider ist der Fall nur bakteriologisch untersucht, wobei Stäbchen konstatiert wurden, die morphologisch als Friedländersche imponierten.

Bruckenhoff und Thompson (20) haben im Jahre 1902 62 Pneumoniefälle untersucht, wobei sie 2mal den *Bacillus pneum.* in den Lungen bakteriologisch nachweisen konnten, und zwar einmal in Reinkultur, das andere Mal in Kombination mit dem *Diplococcus lanceolatus*. Sears und Larabee (21) fanden in einem Falle von Pneumonie den Friedländerschen *Bacillus* in Kultur, Ausstrichpräparaten und Gewebsschnitten.

Ich will hier noch erwähnen, daß im Obuchow-Krankenhouse noch weitere 8 Fälle zur Sektion kamen, in denen auf Grund der anatomischen Eigenschaften a priori die Diagnose der Friedländerschen Pneumonie gestellt werden konnte.

An der Hand der 10 angeführten Fälle und der in der Literatur niedergelegten Angaben erlaube ich mir folgende Schlußfolgerungen zu machen:

1) Es hat den Anschein, daß der *Bacillus pneumoniae* Friedländer als selbständiger Erreger von Pneumonie auftreten kann. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich um eine Mischinfektion der Lungen, wobei der Friedländersche *Bacillus* nicht nur quantitativ prävalieren kann, sondern auch qualitativ große Bedeutung zu haben scheint, indem er der Pneumonie ein spezifisches Gepräge gibt.

2) Die uns interessierende Pneumonieform kann auf Grund des anatomischen Bildes, des klinischen Verlaufes und des bakteriologischen Befundes als „atypische“ bezeichnet werden,

3) Diese Pneumonie tritt im Vergleich zu der typischen fibrinösen sehr selten auf. Ihr Verlauf ist ein bösartiger und führt meistens zum Tode.

Zum Schluß will ich darauf hinweisen, daß nur durch weitere anatomische, bakteriologische und klinische Untersuchungen (einer Pneumonieform) die Frage über die ätiologische Bedeutung des *Bacillus pneumoniae* Friedländer endgültig beantwortet werden kann. Finkler (22) meint: „Was den *Bacillus pneumoniae* oder den Friedländerschen Pneumococcus betrifft, so scheint er ziemlich selten die Ursache der Pneumonie zu sein, aber der Zweifel, ob er überhaupt in ätiologischer Beziehung zur krupösen Pneumonie stehe, ist nicht berechtigt, da er in Weichselbaums Fällen 4mal beim Ausgießen auf Agarplatten ausschließlich und unvermengt gefunden wurde, darunter einmal bereits aus dem aus der Lunge entnommenen Saft. Das unvermischte Vorkommen ließ sich einmal konstatieren 1 Stunde post mortem, am 4. Tage nach Beginn der Pneumonie und einmal im Sputum am 2. Tage der Erkrankung, so daß hier der Einwand widerlegt ist, als könne im Beginn der Pneumonie ein anderer Coccus noch zugegen gewesen sein.“

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Chefarzt des Krankenhauses, Dr. A. A. Netschajew, dem früheren Prosektor, Prof. Dr. A. J. Moisejew und Dr. J. J. Iversen meinen verbindlichsten Dank hier aussprechen zu können.

Literatur.

- 1) Moisejew, A. J., Zur pathologischen Anatomie und Histologie der Friedländerschen Pneumonie. (Bolnitschnaja Gazetta Botkina. 1900. No. 20 u. 22.) [Russisch.]
- 2) Fricke, Ueber den sogen. *Bacillus mucosus capsulatus*. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXIII. 1896. p. 380.)
- 3) de Simoni, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Mucosusbacillen und ihre Identität mit den Pneumobacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. No. 12/13.)

- 4) Netter, Etude bactériologique de la bronchopneumonie chez l'adulte et chez l'enfant. (Arch. de méd. expér. et d'anatomie path. Bd. IV. 1892. No. 1.)
- 5) Fraenkel, A., Spezielle Pathol. und Therapie der Lungenkrankheiten. Berlin und Wien 1904. I. Hälfte.
- 6) Stühlern, V., Zur Frage über die atypischen Formen der krupösen Lungenentzündung. [Diss.] St. Petersburg 1900. [Russisch.] p. 67—96.
- 7) Fiedländer, C., Die Mikrokokken der Pneumonie. (Fortschritte der Medizin. 1883. No. 22.)
- 8) Weichselbaum, Ueber die Aetiologie der akuten Lungen- und Rippenfellentzündungen. (Wien. Med. Jahrb. 1886. p. 510.)
- 9) Fraenkel, A., 1) Weitere Beiträge zur Lehre von den Mikrokokken der genuin. fibrin. Pneumonie. (Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XI. 1886.) 2) Siehe No. 5, p. 392.
- 10) Netter, Bronchopneumonie. (Charcot-Bouchard, Traité de médecine. T. IV. p. 951.)
- 11) Étienne, Le pneumobacille de Friedlaender, son rôle en pathologie. (Archiv de méd. expér. et d'anatomie. T. VII. 1895. p. 124.)
- 12) Rispal, Pleuropneumonie suppurée causée par le bacille encapsulé de Friedlaender. (Gazette hebdom. de méd. etc. 1893. p. 601.)
- 13) Eppinger, cit. nach Lubarsch und Ostertags Ergebnisse der allgem. Pathol. 1896.
- 14) Smith, cit. nach Baumgartens Jahresbericht. 1868. p. 82.
- 15) Howard, cit. ibidem.
- 16) Curry, cit. ibidem.
- 17) Rosenthal, Atypische Pneumonie infolge Mischinfektion bei akuter hallucinatorischer Verwirrtheit. (Münch. med. Wochenschr. 1898.)
- 18) Beco, L., Recherches sur la fréquence des septicémies second. au cours des infect. pulm. (Revue de médecine. 1899. No. 6.)
- 19) Aufrecht, Atypische Pneumonie bei puerperaler Endometritis. (Deutsch. Archiv f. klin. Med. Bd. LVI. 1900. Heft 5 u. 6.)
- 20) Bruckenhoff und Thompson, cit. nach Lubarsch und Ostertags Ergebnisse der allgem. Pathol. etc. VIII. Jahrg. S. 1902. p. 309.
- 21) Sears und Larabee, cit. ibidem.
- 22) Finkler, Die akuten Lungenentzündungen als Infektionskrankheiten. Wiesbaden 1891. p. 272.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Fall von Pyämie mit Soorinfektion.

[Mitteilung aus dem patholog.-anatom. Institute der k. k. Universität
Innsbruck.]

Von Dr. E. v. Hibler, Privatdozenten und I. Assistenten am Institute.

Mit 1 Tafel.

Bisher sind nur wenige Fälle von metastatischen Soorerkrankungen beim Menschen bekannt geworden. Ich unterlasse es, sie hier einzeln aufzuführen, sondern verweise auf die eingehenden Darstellungen Cao¹⁾ und Sternbergs²⁾, besonders aber auf Plauts³⁾ gründliche Ausführungen über den Gegenstand in seiner Abhandlung über die Hyphenpilze.

Die von Plaut zitierten Beobachtungen von Zenker, Ribbert, Schmorl, Pineau und Guidi betreffen Fälle, bei denen die

1) Cao, G., Oidien und Oidiomykose. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV. 1900. p. 282.)

2) Sternberg, C., Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Bd. XXXIII. 1902. p. 1.)

3) Plaut, H. C., Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. I. 1903. p. 591 ff.

metastatische Soorinfektion im Gefolge und in Begleitung anderartiger, erfahrungsgemäß schwerer Infektionserkrankungen sich eingestellt hatte.

Bei dem metastatischen Kleinhirnabsceß, der in dem Pyämiefalle vorliegender Mitteilung sich vorfand, dürfte es sich aber möglicherweise, ja wahrscheinlich um eine reine Soorinfektion handeln. Wenigstens ließ sich mittels Kulturverfahren in der eitrigen Metastase im Kleinhirn nur der Soorpilz nachweisen. Bei mikroskopischer Untersuchung waren durchwegs nur wohlausgebildete Hefezellen und Fadengebilde des Soorpilzes aufzufinden, denen nur an vereinzelter Stellen von Ausstrichpräparaten des Eiters vom Kleinhirnabsceß verkümmerte und degenerierte Formen beigemischt waren. Gegen die etwaige Deutung letzterer als Mikroorganismen anderer Art führe ich gleich hier an, daß Gebilde von ganz übereinstimmender Beschaffenheit unter gewissen Bedingungen auch in den durch sorgfältige Prüfung als rein erwiesenen Kulturen dieses Soorpilzes auf dem Wege der Degeneration zu stande kamen. Es drängte sich daher im Laufe der Untersuchung immer mehr die Annahme auf, daß, sofern nicht etwa andere Mikroorganismen durch ihr vorheriges Zugrundegehen dem Nachweise sich entzogen, diese Absceßmetastase durch reine Soorinfektion verursacht wurde. Auch in den aus dem primären Infektionsgebiete bzw. aus dessen Umgebung am Halse angefertigten mikroskopischen Präparaten ließ sich nur Soor nachweisen. Für diese Präparate ist ebenfalls die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß etwa neben oder vor dem Soor Mikroorganismen vorhanden gewesen, jedoch durch ihr Zugrundegehen dem Nachweise sich entzogen.

Die von Impfversuchen an Tieren erwartete Klärung der Frage blieb insofern aus, als die bisher an Tieren vorgenommenen Impfungen keine eitrigen Veränderungen zur Folge hatten. Selbstverständlich bleibt die Möglichkeit offen, daß die aus dem Kleinhirnabsceß gewonnene Reinkultur ihre pyogene Eigenschaft während des Kulturverfahrens verloren haben kann oder diese Eigenschaft gegenüber den benützten Versuchstieren überhaupt nicht ausübte. Möglicherweise wird übrigens bei Vergrößerung der Dosis des Impfmateriales und anderer Applikationsweise desselben oder bei mit anderen Noxen kombinierter Vornahme der Impfung Eiterung zu bewirken sein. Unter allen Umständen kommt bei der Seltenheit einschlägiger Beobachtungen diesem Falle so viel Interesse zu, daß die ausführliche Mitteilung desselben gerechtfertigt erscheint.

Ich will im folgenden die bei der Sektion, bei der mikroskopischen und bei der kulturellen Untersuchung aufgenommenen Befunde darlegen, denen ich aber die Krankengeschichte¹⁾ des Falles voranstelle.

Die Erkrankung betrifft eine 46 Jahre alte Bauersfrau (Sch. M.) aus Innervillgratten bei Sillian im Pustertale, die sich nach ihrer Angabe anfangs Juni 1903 beim „Kühehüten“ in heftiger Weise erkältete und daraufhin von ziehenden Schmerzen im rechten Kiefergelenke befallen wurde. Die Schmerzen verbreiteten sich allmählich auf die ganze rechte Seite des Gesichtes und griffen auch auf Hals und Nacken über. Bewegungen des Kiefers waren erst sehr schmerzhaft und wurden bald überhaupt unmöglich. 10 Wochen lang konnte Patientin den Mund nicht öffnen und daher nur flüssige Nahrung zu sich nehmen. Später stellten sich auch bei Bewegungen des Kopfes so starke Schmerzen ein, daß die Kranke dieselben ängstlich mied und den Kopf stets steif und etwas zurückgebogen hielt. Zu all dem gesellten sich noch heftige Kopfschmerzen und Schmerzen im rechten Arm, die bis in die Hand ausstrahlten.

1) Für die gütige Uebersetzung der Krankengeschichte, die durch Dr. Plattner seinerzeit aufgenommen wurde, bin ich dem derzeit. Vorstande der chirurgischen Klinik, Prof. Schloffer, zu Dank verbunden.

Bei der Aufnahme in die chirurgische Klinik zu Anfang Oktober 1903 bot die Kranke das Bild von „Malum suboccipitale“. Der Status praesens der Krankengeschichte besagt: Patientin von mittelgroßem, kräftigem Körperbau, aber schlecht genährt. Geringgradiges Lungenemphysem. Große Pulsfrequenz. Die Herztöne dumpf, das Herz nicht vergrößert.

Der Harn frei von Eiweiß und Zucker.

Die rechte Hälfte des Gesichtes ist bis zum Jochbogen lebhaft gerötet, angeschwollen und sehr druckempfindlich. In geringerem Grade finden sich dieselben Erscheinungen auch an der rechten Halsseite und am Nacken ausgebildet. Die Schwellung im Gesicht fühlt sich teigig-weich an, wie durch Oedem bedingt.

Die Lymphdrüsen in diesen Regionen werden nicht vergrößert angegeben. Willkürliches Öffnen des Mundes unmöglich, passives Öffnen verursacht heftige Schmerzen und stößt auf starken Widerstand, die Kinnlade schnell dabei federnd in die alte Lage zurück. Lageveränderung des Unterkiefers nicht nachweisbar, seitliches Verschieben in geringem Maße möglich, wobei sich ein leichtes Knarren vernehmen läßt.

Ueber Krankheitsverlauf bezw. Behandlung wird folgendes berichtet:

Am 8. Okt. wird nach Incision fingerbreit hinter und unter dem Ansatz des rechten Musc. sternocleidomastoideus aus einem Hohlraum seitlich und vor dem 1. und 2. Halswirbel schmutzigbrauner Eiter entleert. Bei der Untersuchung zeigt sich der Querfortsatz des 2. Halswirbels rauh, des Periostes entblößt. In die Eiterhöhle wird ein Drainrohr eingeführt und sodann ein feuchter Verband angelegt.

Am 9. Okt. Beiderseitige starke Bronchitis. Temperatur 37,7° C.

Am 12. Okt. Extension der Halswirbelsäule durch Anlegen einer Glissonschen Schlinge.

Am 17. Okt. Die Schwellung im Gesicht völlig zurückgegangen, weniger am Nacken. Der Mund kann aber noch immer nicht geöffnet werden.

Am 19. Okt. Erhöhung der Temperatur auf 39° C. Die Kranke ist sehr unruhig, klagt über heftige Kopfschmerzen. Die Anschwellung am Nacken geringer geworden, nicht aber die Absonderung aus der Incisionsstelle.

Am 25. Okt. Patientin in der Nacht delirös und unruhig. Unwillkürliche Kotentleerung. Kopfschmerzen.

Am 7. Nov. Der Allgemeinzustand der Kranken etwas gebessert. Die Schwellung am Nacken ganz gewichen. Der Unterkiefer kann aber noch nicht geöffnet, der Kopf nicht gedreht werden. Sekretion der Wunde besteht fort.

Am 13. Nov. Zeichen von Herzschwäche, geringe Cyanose, Rasseleräusche über beiden Lungen, Husten.

Am 15. Nov. Exitus letalis.

Als ich am 16. Nov. die Leiche zu der mit den Studierenden abzuhaltenden Sezierung verwendete, war mir, wie begreiflich, nicht die Krankengeschichte bekannt, sondern nur als klinische Diagnose mitgeteilt: Caries baseos cranii et caries vertebr. I. et II. Incisio. Abscessus frigidus suboccipitalis. Bronchopneumonia. Meningitis tuberculosa.

Bei der Obduktion des Schädels fanden sich an Gehirnhäuten und Großhirn keine krankhaften Veränderungen, im Besonderen keine Zeichen von Meningitis tuberculosa, wohl aber zeigte die linke Kleinhirnhemisphäre eine leichte Vorwölbung ihrer Basalfäche, die mit wenig lichtgrau-grünlichem, klebrigem Eiter bedeckt war. Nach Wegstreichen desselben fiel ein kaum linsengroßer, weißlichgrauer, unscharf begrenzter Fleck an der graubräunlichen Rindenoberfläche des Kleinhirns auf und zugleich bei Berührung des Gebietes Fluktuation.

Ein Einschnitt an der Basis der Kleinhirnhemisphäre in diagonaler Richtung von vorninnen nach hintenaußen, der den beschriebenen weißlichen Fleck halbiert, zeigt die medialen, basalen Teile der Hemisphäre von einem Eiterherde eingenommen, der nach oben bis zum Corpus medullare und seitwärts bis zur langen Blattlamelle der Mitte des Lob. poster. infer. reicht. Die etwa 2½ cm im Durchmesser große Höhle erfüllt zäher, etwas durchscheinender, grünlichgrauer Eiter; sie ist allseitig von einem ca. 1 mm breiten, örtlich rotgrauen, vorwiegend jedoch grauweißen Saum begrenzt. Von diesem demarkierenden Grenz-

saum nach außen bemerkt man nur örtlich stärkere kapillare Injektion und Gefäßerweiterung in der Kleinhirnsubstanz.

Bei Lostrennung der Halsorgane und nach Herausnahme derselben zeigten sich die hinteren und teilweise auch die seitlichen Wandungen des Rachens sowie des obersten Oesophagus an die Halswirbelsäule stark angewachsen. An den Tonsillen sind keine größeren Veränderungen bemerkbar. Die Pharynxwand erscheint zum Teil einbezogen in eine wechselnd mächtige Schicht eines grau- oder rosafarbigem, vorwiegend schwartig verdichteten, örtlich sulzig-ödematösen Gewebes. Dieses narbige Granulationsgewebe umlagert die Körper der Halswirbel, umzieht seitlich auch deren Querfortsätze und verliert sich nach vorn und seitwärts in die umgebenden Weichteile. Es schließt Buchten und Gänge in sich, die dünnflüssigen Eiter und darin graue und weißliche kleine Bröckel enthalten. Zwischen den verdickten Scheiden der örtlich selbst schwierig umgewandelten Muskeln, die rechts und links der Halswirbelsäule anliegen, erstrecken sich beiderseits Senkungsabscesse in die Supraclaviculargruben hinab. Sie reichen bis zur Pleurakuppe der Brusträume und dringen in Zweiggängen bis zu dem Plexus cervicalis, rechterseits sogar bis zur Axilla vor.

Arrosionen der Knochen sind nur am Epistropheus, hauptsächlich am rechten Querfortsatz desselben, in auffallender Weise vorhanden.

Einzelne Lymphdrüsen im Bereiche des Halses erscheinen vergrößert, tuberkulöse oder auffallende anderartige Veränderungen sind an ihnen jedoch nicht zu bemerken.

Als die Halswirbelsäule (samt der in ihr lagernden Medulla spinalis) behufs Aufbewahrung für das Museum von der Brustwirbelsäule abgetrennt wurde, zeigte sich im unteren Halssegmente der Raum zwischen Duralsack und Wirbelkanalwand größtenteils von einem herdweise rot-grauen oder gelbgrauen, sonst sulzigen Gewebe in wechselnd breiten Lagen, im übrigen von seröser, rötlich trüber Flüssigkeit ausgefüllt.

Was die Brustorgane anlangt, so zeigte sich die mediale Fläche des Oberlappens der rechten Lunge an den Pleuraüberzug der Brustwirbelkörper und des hinteren Mediastinum mittels zarter Fibrinlagen angeklebt und außerdem in der Ausdehnung von etwa 3 cm fest bindegewebig angewachsen. Nach Lösung dieser Verbindung fällt eine fluktuierende, buckelige Vorwölbung des Perio- bzw. Pleuraüberzuges der 5 oberen Brustwirbelkörper auf. In die diese Vorwölbung bildende Eiterhöhle läßt sich ein Ausläufer der oben erwähnten Senkungsabscesse verfolgen.

Ein im Gebiet der angegebenen Verwachungsstelle durch den Oberlappen der rechten Lunge durchgelegter Frontalschnitt deckt eine subpleurale, mehr als taubeneigroße Höhle auf mit wenig schmierigem, grauem Inhalt, umgrenzt von schwärzlich-grauen, schwierig-narbigen, ziemlich glatten Wänden. Von dieser Höhle aus gelangt die Sonde in einen erweiterten Bronchus. Ein ähnlicher, kleinerer, weniger abgekapselter Absceßherd findet sich in Entfernung von kaum 1 cm unter dem geschilderten. Ueberdies fanden sich in nächster Umgebung rot-graue, hepatisierte lobuläre Infiltrate, nirgends aber tuberkulöse Veränderungen, sondern nur in beiden Lungen die geringen Emphysems und beträchtlichen Oedems.

Der Muskel des in seinen Höhlen erweiterten Herzens braun, atrophisch. Ebenso stark atrophisch die großen Drüsen der Bauchhöhle. An der Oberfläche der rechten Niere mehrere nephritische Narbeneinziehungen. Die übrigen Harnorgane und die Genitalien sowie die Verdauungswege boten keine auffälligen Veränderungen dar bis

auf die auch hier, wie im allgemeinen, ausgeprägte Abmagerung und Blutarmut. An der Haut der Kreuzbeingegend ein oberflächlicher dekubitaler Substanzverlust.

Der Obduktionsbefund ergab demnach die Diagnose: Pyämie. Als Ausgangspunkt derselben mußte bei der Sektion eine Eiterung an der Halswirbelsäule und deren Weichgebilden angenommen werden, von wo aus es einerseits zu Senkungsabscessen bis unter die rechte Parietalpleura, andererseits zu metastatischen Abscessen in der rechten Lunge und in der linken Kleinhirnhemisphäre gekommen war.

Auf Grund der erst später erlangten Kenntnis der in der Krankengeschichte angeführten Daten kann man aber wohl auch vermuten, daß den Ausgangspunkt der Infektion die Mundhöhle bzw. der Unterkiefer und die Gegend des Kiefergelenkes bildeten. Da sich während der Obduktion keine Gelegenheit zur Ermittlung der Daten der Krankengeschichte ergab, unterblieb leider die Untersuchung der letztgenannten Gebilde.

Ich beschränkte mich darauf, die Halswirbelsäule samt Duralsack und Medulla sowie Gebiete der Senkungsabscesse zur mikroskopischen Untersuchung in Formalin aufzubewahren, sowie auch das Kleinhirn, von dessen Absceß ich jedoch vorher behufs bakteriologischer Untersuchung mittels Glaskapillaren Eiter entnahm und in 2 Röhrchen mit schiefer Agarfläche übertrug. Den Eiter des Kleinhirnabscesses verwendete ich auch zur Anfertigung von Ausstrichpräparaten.

Als ich in den Ausstrichpräparaten nicht die erwarteten Befunde einer gewöhnlichen pyogenen Kokkeninfektion antraf, indem mir weder nach Loefflerscher noch bei Grams Färbemethode Kokken- oder etwa Stäbchenmikroben auffielen — auch die Untersuchung auf Tuberkelbacillen habe ich, nebenbei gesagt, gemacht, jedoch, wie schon voraussehen war, ohne Erfolg — da mußte ich um so mehr auf das Ergebnis der Kulturversuche begierig sein.

Der verwendete Agarnährboden enthielt außer 0,6 Proz. NaCl und etwas Lackmus nur die Bestandteile eines kalten Auszuges von Gehirnschubstanz (einer Leiche). Die auf der schiefen Agarfläche abgelagerten Eiterklümpchen verstrich ich ein wenig mittels einer Platinnadel und ließ behufs weiterer Verteilung des Eiters, unter Neigen des Röhrchens, noch das Preßwasser über die schiefe Fläche des Agars ein paarmal hinwegfließen. Hierauf stellte ich beide Röhrchen in den Brutschrank (36,5° C).

Nach 13 Stunden zeigten sich bereits ganz kleine, punktförmige Kolonien, ziemlich gleichmäßig zerstreut, auf der Agaroberfläche des Röhrchens 1. 24 Stunden später waren in diesem Röhrchen einzelne Kolonien zu 1,5 mm Durchmessergröße herangewachsen, die scheibenförmige Gestalt zeigten und bei 80-facher Vergrößerung, besonders an den Rändern, ein auffallend gleichmäßig grobkörniges, maulbeerartiges Gefüge erkennen ließen.

Im Röhrchen 2 war zu dieser Zeit noch keinerlei Wachstumsentwicklung zu bemerken.

Bei Untersuchung der Kolonien des Röhrchens 1 im hängenden Tropfen, unter Zusatz von Kochsalzlösung, bot sich mir nun das unerwartete Ergebnis, daß dieselben durchgehends nur aus hefezellartigen Mikroorganismen bestanden. Auch im anscheinend klaren Preßwasser am Röhrchengrunde fanden sich bei Untersuchung desselben im hängenden Tropfen sowie in den davon nach Gram gefärbten Ausstrichpräparaten gleichfalls einzig und allein Hefezellformen.

Nach Ablauf von 48 Stunden erschien die ganze Agaroberfläche des Röhrchens 1 mit Kolonien besetzt. An Stellen dichtester Lagerung konnten deren etwa 25 in 1 qcm

gezählt werden. Die Kolonien hatten jetzt mehrfach eine Größe von 2 mm im Durchmesser erreicht und besaßen durchgehends kreisrunde Gestalt, die nur örtlich durch buckelige Vorwölbungen etwas gestört schien. Sie ragten über die Oberfläche des Nährbodens kuppenförmig vor, waren grauweiß gefärbt, wenig durchscheinend. Das reichlich vorhandene Preßwasser am Röhrchengrunde war auch zu dieser Zeit noch ziemlich klar, hatte aber ein grauweißes Sediment abgeschieden. An der Grenzlinie zwischen Preßwasser, Agar und Luft ist weder in Form von Kolonien, noch von Rasen Wachstum erfolgt.

Im Agarröhrchen 2 hat sich auch zu dieser Zeit noch kein Wachstum entwickelt und es blieb darin auch späterhin jegliches Wachstum aus, nachdem ich versucht hatte, die Entwicklung von im aufgestrichenen Eiter etwa doch vorhandenen Keimen durch Zusatz steriler Ascitesflüssigkeit (1 ccm) zu fördern.

Bei dieser Sachlage ergab sich natürlich eine Reihe von Aufgaben zur weiteren Klarstellung des Falles: Einerseits die Artbestimmung der in den Kulturen nachgewiesenen hefezellartigen Mikroorganismen und die Prüfung ihrer pathogenen Wirkung bei Verimpfung auf Versuchstiere, andererseits die histologische Untersuchung der beschriebenen Krankheitsherde in den genannten aufbewahrten Organteilen.

Ich wende mich zunächst zur Mitteilung der erstgenannten Untersuchungen bezw. zum Nachweis, daß der gefundene Mikroorganismus als Soorpilz zu diagnostizieren ist und werde im Anschluß daran auch über die Befunde berichten, die sich im Verlaufe der mikroskopischen Untersuchung der verschiedenen Kulturen in Betreff der Sporenbildung, der Zellsubstanz und Färbbarkeit des aus dem Kleinhirnabsceß gezüchteten Soorpilzes ergaben, zu deren Beurteilung ich auch vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von Hefen und einem anderen Soorstamm notwendig fand.

Ich unterzog zunächst die mit dem früher beschriebenen Verfahren aus dem Kleinhirnabsceß gewonnene Reinkultur all den Prüfungen, die speziell zur Differentialdiagnose zwischen Soorpilz und Hefen bekannt geworden sind, indem ich vor allem aus ihr Plattenkulturen unter Verwendung von Traubenzuckergelatine und zuckerfreiem Agar herstellte und die dabei an den Kolonien hervortretenden Wachstumserscheinungen beobachtete.

Auf den bei 22° C gehaltenen Gelatineplatten bemerkte ich nach 2 Tagen an ganz vereinzelt unter den zahlreichen, einander sonst völlig gleichen, grobkörnigen Kolonien, daß deren Rand mit kurzen, fadenartigen, teilweise verzweigten Ausläufern sich umzogen hatte (s. Fig. 1). Am 4. Tage zeigten diese Kolonien auffallende Veränderungen. Die früher schlanken Zweige und Sprossen waren dicker geworden und sahen nun stummelig, wie verkrüppelt aus, da sie örtlich kugelige Anschwellungen bekommen und vordringende Wucherungen die Räume zwischen den Aestchen größtenteils ausgefüllt hatten. Die Randsprossen solcher Kolonien boten nun vollkommen jenes Aussehen dar, welches H. C. Plaut in Fig. 29 auf p. 580 des Handbuchs der pathogenen Mikroorganismen von W. Kolle und A. Wassermann, Bd. 1, von den Vegetationen des Soorpilzes in weicher Gelatine abgebildet hat. Von den zahlreichen anderen Kolonien in dieser Gelatineplatte, die vor 2 Tagen ganz in sich geschlossen und glatt begrenzt waren, hatten nun nachträglich manche gleichfalls Randausläufer gebildet, jedoch solche von der schlanken Form der Fig. 1. In den nächsten Tagen trat jene die Randausläufer betreffende Gestaltveränderung der erstbeschriebenen Kolonien auch an diesen ein.

Die Kolonien auf den bei 22° C gehaltenen Agarplatten zeigten im ganzen ein ähnliches Verhalten wie die Gelatinekolonien. Sie unterschieden sich von diesen nur durch ihre längeren und zahlreicheren Randsprossen und -zweige, die diesen Kolonien ein mehr lockeres Aussehen verliehen (s. Fig. 2). Eine Abweichung bestand außerdem nur noch insofern, als auf den Agarplatten überhaupt die Bildung von Randausläufern (auch späterhin) auf sehr wenige Kolonien beschränkt blieb.

Zur Erlangung weiterer Stützpunkte für die Diagnose legte ich noch Kulturen auf verschiedenenartigen Nährsubstraten an, wie auf roten Rüben, Kartoffeln, Rübengelatine, in Malzabkochungen, in

schwach alkalischem Rotwein mit Zusatz von 3—5 Malzkörnern zu ca. 8 ccm Flüssigkeit, in Gehirnbrei und endlich auf der Oberfläche von erstarrtem menschlichem Blut, von Ascitesflüssigkeit und von 1 Proz. Traubenzucker und Hämoglobin enthaltendem Hammelblutserum. Ferner zog ich, um die Wachstumserscheinungen des gezüchteten Mikroorganismus auf den aufgezählten Nährsubstraten diagnostisch besser verwerten zu können, zum Vergleiche heran die Kulturen von 4 Hefeformen und von einem *Oidium albicans* auf eben denselben Nährböden¹⁾.

Aus meinen Befunden bei diesen vergleichenden Beobachtungen hebe ich nun folgendes Wichtigere hervor.

So wie das weiterhin als Soor I zu bezeichnende *Oidium albicans*, wächst auch der Pilz des Kleinhirnabscesses auf roten Rüben²⁾ bei Zimmertemperatur in Form feuchter, schmieriger Rasen von etwas schmutziger, mehr dunkelgrauer Farbe, der ein schwacher oder stärkerer roter Farbenton beigemischt ist³⁾. Die Hefen I—III bilden hingegen auf roten Rüben Rasen von fast rein weißer, Hefe IV von rein rosaroter Farbe.

In Rotrübensaftgelatinekulturen (alkalische Reaktion) bekommen die Kulturrasen von Soor I und vom Kleinhirnabsceß, im Gegensatz zu den 4 Hefeformen, wie auf den Rotrübenstücken einen rotgrauen Farbenton, jedoch in geringerem Grade. In Kulturen auf gewöhnlicher Gelatine beobachtete ich wie bei Soor I so auch beim Mikroorganismus vom Kleinhirnabsceß Bildung von in die Gelatine hineinwachsenden, büstenförmigen Ausläufern, eine Erscheinung, die in den Rübensaftgelatinekulturen ausblieb, in der aber Viele, nebenbei gesagt, ein charakteristisches Merkmal des Soorpilzes erblickten.

Eine teilweise oder völlige Erweichung und Verflüssigung der Gelatinesubstanz bewirkt in Kulturen auf gewöhnlicher Gelatine so wie Soor I auch der Pilz vom Kleinhirnabsceß. In Kulturen auf Rotrübengelatine beobachtete ich jedoch nur bei Soor I die Verflüssigung.

In schwach alkalischer Rotweimalzkörner-Nährlösung (ca. 8 ccm) entwickelt sich bei 30° C nach ca. 3—4 Tagen wie bei Soor I auch beim Pilz vom Kleinhirnabsceß und den Hefepilzformen I—IV ein graues Häutchen auf der ganzen Oberfläche der Flüssigkeit oder es bilden sich doch am Rande kleine Ansätze eines solchen. Zu dieser Zeit besitzen die Häutchen der 4 Hefepilzformen entschieden die größere Ueppigkeit als die von Soor I und vom Kleinhirnabsceßpilz. Bei weiterer Beobachtung, in Zwischenräumen von 2—3 Tagen, kehrt sich dieses Verhältnis jedoch um — auch wenn nach jeder Beobachtung durch Aufschütteln des Röhrcheninhaltes die gebildete Kahmhaut völlig zerstört wird und untersinkt — die Hautbildung läßt bei den 4 Hefeformen nach und hört ganz auf, während sie bei Soor I sowie bei dem Pilz vom Kleinhirnabsceß zunimmt und dann viele (14) Tage mit großer Ueppigkeit fortbesteht.

Bei den Kulturen des Soor I und des Kleinhirnabsceßpilzes auf leicht alkalischem Malzinfus in Erlenmeyer-Kölbchen bei ca. 30° C konnte ich im Gegensatze zu den Befunden in Rotweimalzkörner-Nährlösung nur vorübergehend Bildung von kleinsten kahmhautartigen Partikeln beobachten, die örtlich an der Glaswand haften.

Ich überzeugte mich des weiteren auch, daß der aus dem Kleinhirnabsceß gezüchtete Mikroorganismus der Entwicklung unter anaëroben Bedingungen fähig ist. Ich sah in Agarrührkulturen in hoher Schicht, wobei die Luftabwesenheit durch langes Kochen des Agars kurz vor der Impfung erreicht wurde, bei 37° C nach 24—48 Stunden auch in den tiefsten Schichten des Agar Kolonien vom Typus der Fig. 2 entstehen, die allerdings kleiner blieben als die Kolonien an und nahe

1) Das zum Vergleich verwendete *Oidium albicans* habe ich vor Jahren aus einer Soormembran vom Oesophagus eines Säuglings isoliert und seither fortgezüchtet. Im nachfolgenden werde ich diesem Soorstamm die kurze Bezeichnung: Soor I geben. Von den vier zum Vergleich der Wachstumserscheinungen herangezogenen Hefeformen fand ich vor einigen Monaten die I. als Kolonie auf einer Agarplatte, die mit bronchitischem Sekret beschickt worden war. Die Hefeform II züchtete ich vor kurzem rein aus einer Kahmhaut auf Salzgurkenwasser. Hefe III, *Saccharomyces Pastorianus*, stammt wie Hefe IV, Rosahefe, aus der Mikrobiensammlung des hygienischen Institutes in Innsbruck.

2) Durch mehrmaliges Kochen verlieren diese die rote Färbung fast gänzlich.

3) Vergl. Linossier u. Roux, Recherches morphologiques sur le champignon du muguet. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1890. No. 1. p. 62.)

der Oberfläche. Ein steriles Kontroll-Lackmusagarröhrchen, in dem der Lackmusfarbstoff durch gleich langes Kochen in die Leukobase übergeführt war, ließ nach 48 Stunden bei 37° C in der unteren Hälfte noch keine Oxydation der Leukoverbindung erkennen.

Das Impfmateriale zur Anlegung der hochgeschichteten Agarröhrkulturen stammte aus der Tiefe einer fast 2 Monate alten Gehirnbreikultur des Pilzes. In reiner Wasserstoffatmosphäre gedeiht dieser Pilz vom Kleinhirnabsceß ebenfalls. Bei einem Kulturversuch mit Wasserstoffatmosphäre in Anaërobenröhrchen bei 37° C entwickelte der Pilz im Preßwasser und auf der schiefen Fläche von mit 1 Proz. Traubenzucker versetztem hämoglobinhaltenen, erstarrten Hammelblutserum sogar sehr üppige große Hefenformen und hefeartige sproßverbände.

Was des näheren die mikroskopischen Wuchsformen des Pilzes aus dem Kleinhirnabsceß auf den verschiedenartigen benutzten Nährsubstraten betrifft, bemerke ich, daß dabei das bekannte Verhalten des Soorpilzes zu beobachten war. Auf den Eiweißnährböden fanden sich mehr die Hefezellformen (s. Fig. 5), auf kohlehydrathaltigen Substraten vielfach, besonders in tiefen Schichten derselben, auch die verzweigten und gegliederten Fadenformen (s. Fig. 3).

Im Besonderen hervorheben möchte ich die Befunde in einer Kultur, zu der ich als Nährsubstrat Blutgerinnsel einer Leiche verwendet hatte. Das im Dampfapparate mehrmals sterilisierte Blut befand sich in einem kleinen Kölbchen mit langem kapillaren Hals, der nach Beschickung des Kölbchens mit Kulturmaterial des Pilzes am oberen Ende zugeschmolzen worden war. Im Preßwasser dieses Röhrchens fanden sich, nachdem es 46 Tage bei ca. 20° C gehalten worden war, zahlreiche Hefezellformen des Pilzes von ungewöhnlicher Kleinheit vor. Viele davon erschienen geradezu kokkenartig klein und nur vereinzelt besaßen die sonst typische Größe. In Deckgläsenausstrichpräparaten sieht man neben den kleinen runden auch kleine gestreckte, stäbchenförmige Pilzzellen, die örtlich zu kurzen und wohl auch längeren Fadenverbänden sich vereinigt finden. Die Fadengebilde erscheinen unverzweigt und nicht deutlich gegliedert, aber von hellen, breiten, hüllenartigen Rändern umsäumt. In Gram-Präparaten¹⁾ zeigen die stäbchen- und fadenförmigen Gebilde ebenso wie die vereinzelt Hefeformen von der gewöhnlichen Größe Gentianfärbung, während die kleineren und kleinsten Hefeformen diese Farbe nicht festhalten, sondern ganz oder bis auf einen punktförmigen Rest die Gegenfarbe (Safranin oder Fuchsin) annehmen.

Der Befund dieser von den gewöhnlichen so verschiedenen Pilzformen in der Blutkultur forderte natürlich den Nachweis, daß diese Formen wirklich und tatsächlich dem Pilz des Kleinhirnabscesses angehören und daß nicht etwa eine Verunreinigung in die Kultur sich eingeschlichen habe. Die Weiterverimpfungen auf verschiedene Nährsubstrate, die mit Kulturmaterial von diesem Röhrchen vorgenommen

1) Die Färbung der Pilzzellen nach Gram gelang in diesen Ausstrichpräparaten weit klarer und differenter bei längerer Färbung in abgestandener, bis 2—3 Tage alter Anilinwasser-Gentianviolettlösung als bei Benutzung frischer Anilinwasser-Gentianviolettlösung mit kurzer oder längerer Färbungszeit. Um nicht nochmals hierauf verweisen zu müssen, bemerke ich gleich hier, daß dies Verhalten bei Färbung der Gewebsschnitte in noch mehr auffallender Weise hervortrat. Bei Gebrauch der abgestandenen Farblösung blieb auch die sonst sehr störende Schrumpfung und Verwerfung der in Celloidin eingebetteten Gewebsschnitte in dieser Lösung sowie auch hernach in der Jodjodkahlösung fast ganz aus.

wurden, ergaben alle, daß nur der Pilz des Kleinhirnabscesses darin vorhanden war und kein anderes Mikrobion. Demnach können diese durch ihre Kleinheit auffallenden Gebilde wohl nur als Verkümmierungsformen des Soorpilzes angesehen und gedeutet werden.

Ich habe auf diese Beobachtung bereits in den einleitenden Worten hingewiesen und dieselbe zur Deutung der schon erwähnten auf Mischinfektion etwa zu beziehenden Befunde in Ausstrichpräparaten vom Eiter des Kleinhirnabscesses herangezogen. In diesen letztgemeinten Präparaten, die, wie gesagt, bei der ersten Durchsuehung keinerlei Mikroorganismen zu enthalten schienen, fand ich bei fortgesetzter Untersuchung nicht nur einzelne große Hefeformen des Pilzes, sondern außerdem an vereinzelten Stellen auch kleinere und kleinste rundliche und gestreckte Gebilde in allen Größenabstufungen. Diese verkleinerten Pilzzellformen waren an einer Stelle in größerer Anzahl und (entsprechend der durch das Ausstreichen des Eiters bewirkten Zerstreung eines ursprünglichen Häufchenlagers) in streifenartiger Verbreitung vorhanden. Im nach Gram gefärbten Präparat haben diese Pilzzellformen die Gentianafarbe nicht festgehalten.

Noch sei angeführt, daß ich in Kulturpräparaten vom Kleinhirnabsceßpilz auch sichel- und halbmondförmige Zellen beobachtet habe und daß dieselben ausgesprochene Aehnlichkeit mit jenen Sichel- und Halbmondformen besitzen, die ich — worauf ich noch später zurückkomme — im Eiter vom Kleinhirnabsceß und zwar in Schnittpräparaten vorfand. Es sei gleich hier erwähnt, daß diese Pilzzellen von Sichel- oder Halbmondgestalt sich in einer 2 Monate alten Gehirnbreikultur fanden und daß ich diese als Material zur Impfung bei 3 Tierversuchen verwendete.

Im folgenden soll nun noch, ehe ich zum Bericht über die unternommenen Tierversuche und zu den an den untersuchten Leichenteilen aufgenommenen histologischen Befunden übergehe, von den bereits erwähnten Untersuchungen berichtet werden in betreff der Sporenbildung des Pilzes und des Verhaltens seiner Zellsubstanz gegen Jodjodkalilösung und gegen Kernfarbstoffe.

Jene Bildungen, die Grawitz, Kehler, Linossier und Roux, Plaut, Grasset und Vuillemin und Dairaiva beim Soorpilz als Kapseln bzw. Chlamydosporen beschrieben und bezeichnet haben¹⁾, bekam ich weder in den Kulturen des Soor I noch in jenen des Kleinhirnabsceßpilzes je zu sehen. Ich fand dieselben auch nicht im Bereiche der Randsprossenschwellungen der Gelatine- und Agarplattenkolonien, trotzdem ich die Platten über einen Monat feucht erhielt und öfters Kolonien speziell nach diesen Chlamydosporen durchsuchte.

Auf der Traubenzuckergelatineplatte, in der die photographierte Kolonie der Fig. 1 gewachsen ist, beobachtete ich wohl mehrere Kolonien von genau dem Aussehen der Fig. 34 auf p. 582 des Kollé-Wassermannschen Handbuchs mit den lose zerstreuten, rundlichen, auffallend großen „Chlamydosporen“, aber hier handelte es sich bei den ganz analog verteilten und gleichgestalteten rundlichen Bildungen im Bereiche der Kolonien nicht um Chlamydosporen, sondern um Ausscheidungen eines kristallinischen Körpers²⁾.

1) Vergl. H. C. Plaut a. a. O. p. 580.

2) Bei mikroskopischer Untersuchung mit den rundlichen Gebilden durchsetzter Kolonieteile auf dem Objektträger, unter Jodjodkalizusatz, erwiesen sich nämlich diese Gebilde als Häufchen hellglänzender, farbloser, dünner, fast gleichseitig rhombischer Blättchen mit oktaëderartig abgestuften Ecken, die oft innigst mit den Pilzzellen verschmolzen erschienen. Es traten diese Kristallhäufchen anfangs nur örtlich und spärlich,

Während ich also, wie gesagt, keine Chlamydosporen zu beobachten Gelegenheit hatte, fand ich wiederholt die durch Hansen¹⁾, Fischer und Brebeck²⁾ und Vuillemin³⁾ beobachteten Askosporen und zwar in den zarten Kahlhäuten einer malzkörnerhaltigen Rotweinkultur, die 24 Tage bei ca. 30° C gestanden hatte. Die sporenhaltigen Zellen, Asken, sind in diesem Kahlhautmaterial von den daneben reichlich vorhandenen Hefezellformen des Pilzes der Größe und auch der Form nach nicht auffallend verschieden. In den Präparaten finden sich, wie man besonders bei Zusatz von Jodjodkalilösung gut sehen kann, außer vielen mit 4 kleinen glänzenden, vorwiegend rundlichen Sporen erfüllten Asken auch solche mit nur 1, 2 oder 3 Sporen. Die Membran mancher Asken mit kleinen glänzenden Sporen erscheint geborsten oder ganz gesprengt und es sind 1, 2, 3 oder alle Sporen durch die Berstungslücke vorgelagert oder gänzlich ausgetreten.

Was Glanz und Größe⁴⁾ anbelangt, zeigen durchaus nicht alle Sporen in einem Askus gleiche Beschaffenheit, sondern man trifft häufig neben kleinen mit starkem Glanz größere fast glanzlose, offenbar erst heranreifende Sporengelände. In Deckgläschenausstrichpräparaten, die mit Ehrlichs Hämatoxylin gefärbt, in Glycerin-essigsäure differenziert und in Glycerin aufgelegt sind, erscheinen die Sporen in den Asken in gleicher Weise mit ungefärbten hellen Säumen, Membranen, versehen, im Innern aber blau gefärbt, wie es in analog behandelten Präparaten bei den entsprechenden Zellteilen der gewöhnlichen Hefezellformen des Pilzes der Fall ist. Näheres hierüber siehe unten. Auch in mittels Safranin gefärbten und in Harz eingeschlossenen Präparaten sind die Sporen in den Asken, weil im Innern gefärbt und von einer ungefärbten Membran umgeben, gut sichtbar.

Bei Soor I und Hefe IV konnte ich in den Kahlhäuten von 26 Tage alten, ebenfalls bei ca. 30° C gehaltenen Malzkörnerrotweinkulturen keine Askosporen auffinden.

Eine besonders erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Einwirkung von Wärme (von 69° C) konnte ich am askosporenhaltigen Kulturmaterial vom Soorpilz aus dem Kleinhirnabsceß nicht nachweisen. Bei einem vergleichenden Versuch mit askosporenfremem Agarkulturmaterial, wobei je 4 Röhrchen geimpft wurden, widerstand der Pilz in beiden Sorten von Kulturmaterial der Einwirkung von 69° C 1 Stunde lang, nicht aber 2.

Außer sporenhaltigen Asken enthielt das Kahlhautmaterial aus der 24 Tage alten Malzkörnerrotweinkultur des Kleinhirnabsceßpilzes noch Hefezellformen, die durch Einschlüsse von Erythrogranulose ausgezeichnet sind. In den mit Jodjodkalilösung aufgelegten, frischen Deckgläschenausstrichpräparaten erscheinen nämlich manche unter den zahlreich vorhandenen Hefezellformen des Pilzes teilweise, selten fast in toto bordeauxrot oder rotbraun gefärbt. Die Granulose findet sich in den Pilzzellen in Gestalt von Körnern oder Flecken.

später fast allgemein und reichlich auf, blieben aber meist isoliert und auffallend lose zerstreut gelagert. Sie beschränkten sich an einem Orte auf eine Kolonie und ließen die umgebende Gelatine völlig frei, anderenorts bildeten sie sich an koloniefreien Stellen oder besetzten Kolonie und umgebende Gelatine in gleichmäßiger Verteilung.

1) Hansen, E., Ueber die neuen Versuche, das Genus *Saccharomyces* zu streichen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. 1893. p. 16.)

2) Fischer u. Brebeck, Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahlpilze, der *Monilia candida* und des Soorerregers. Jena (Gustav Fischer) 1894.

3) Vuillemin, P., Les caractères spécifiques du champignon du muguet (*Endomyces albicans*). (Compt. rend. hebdomad. des s. de l'acad. des sc. T. CXVII. 1886. p. 630—633.)

4) Das Größenverhältnis der Sporen zu den meist ellipsoidischen Asken habe ich bei 3 Messungen also gefunden: Askusdiameter 3,9 : 2,6 μ , Sporendiameter 1,3 μ ; Askusdiameter 4,5 : 3,2 μ , Sporendiameter 2,6 μ ; Askusdiameter 5,2 : 4,55 μ , Sporendiameter 3,25 μ .

Bei Gelegenheit dieser Untersuchung über den Granulosegehalt des studierten Soorpilzes stieß ich auf einige Bilder, die in betreff der Substanz der Pilzzelle bzw. der Frage¹⁾, ob derselben ein Kerngebilde zukommt, von Interesse sind. Es sollen im folgenden einige einschlägige auch auf gefärbte Präparate sich beziehende Beobachtungen mitgeteilt werden.

Ich konnte bei direkter Eintragung von Kulturteilen in Jodjodkali-lösung (nach Lugol) im Zellohale zwei verschiedene Substanzen unterscheiden und hierbei bemerken, daß die Zellmembran durch die Jodlösung nicht gefärbt oder sonst irgendwie verändert wird. Von den zwei im Zellohale unterscheidbaren Substanzen liegt die eine der Zellmembran knapp an und wird von der Jodlösung gelblich gefärbt, während die andere die Jodfarbe in keiner Weise annimmt und in Form eines rundlichen oder ellipsoiden, größeren Ballens, meist ganz umflossen von der mit Jod gelblich gefärbten Substanz, im mittleren oder einem Polteile der Zelle gelegen ist. Die hefeartigen Zellen des Pilzes enthalten manchmal zwei (Teilungen), meist aber nur einen mit Jod nicht färbbaren Substanzballen. In den gestreckten Pilzzellen, die Zweige formieren, reihen sich auch deren 3 und mehr aneinander und besitzen dann wohl stets verschiedene Größe. Die mit Jod gelblich sich färbende Substanz hat in der Regel auffallend körnige Struktur und nimmt den weit größeren Teil der Zelle ein. Eine viel feinkörnigere Struktur besitzt meist der mit Jod unfärbbare Substanzballen, seine kleinen Körner zeigen oft lange Zeit äußerst lebhafte Molekularbewegungen und verleihen ihm einen besonderen, je nach der Einstellung helleren oder dunkleren Glanz. In manchen Zellen verbirgt sich der Substanzballen trotz Glanz und Geschlossenheit einigermaßen oder ganz hinter dichteren oder größeren Körnerlagen der jodfärbbaren Substanz. Bei einer Beobachtung bemerkte ich an den rundlichen sowie an den gestreckten, fadenbildenden Pilzzellen aus dem Kondensationswasser einer frischen bei ca. 28° C gewachsenen Agarkultur anfänglich trotz schärfsten Zusehens in der jodfärbbaren Substanz nur geringfügige Körnung; der glänzende, weißliche Substanzballen erschien fast ganz homogen; Molekularbewegung war in seinem Inhalt nicht zu erkennen. Bei längerer Beobachtung traten (zuerst in der mit Jod gelblich gefärbten Substanz) aber allmählich doch mehr und mehr Körner auf und dieselben lagerten sich, nachdem sie einige Zeit Molekularbewegungen ausgeführt hatten, mit Vorliebe um den ungefärbten Substanzballen. Dieser büßte dabei zusehends wie an Schärfe der Begrenzung so auch meist an Größe ein und entzog sich dann alsbald entweder ganz der Beobachtung und erschien selbst von gelblichen, ruhenden Körnchen durchsetzt. Es liegt nahe, in diesen Veränderungen Absterbeerscheinungen zu erblicken, die vielleicht durch die Jodlösung eingeleitet sind.

Zum Studium des Verhaltens der Pilzzellen gegen Farbstoffe verwendete ich Deckgläschenausstrichpräparate, die ich von jungen bei 37°, 30° und 22° C gewachsenen Kulturen nahm; ich fixierte die aufgetragenen Pilzzellen durch mäßiges Erwärmen oder durch Einlegen in starken Alkohol und färbte sie hauptsächlich mit Kernfarbstoffen, wie Safranin und Hämatoxylin. Letzteren Farbstoff benutzte ich teils in der Ehrlich-schen Zusammensetzung, wobei ich bis zu 24 Stunden färbte und bis zu 2 Stunden in Glycerinessigsäure differenzierte, teils in wässriger Lösung nach Heidenhains Verfahren zur Darstellung der Centrosomen, also mit Beizung und Differenzierung in Ferrid. ammon. sulfuric. Das Safranin kam nur in wässrigen Lösungen zur Anwendung. Die Präparate wurden nach der Differenzierung durchgehends mit Glycerin aufgelegt und wie die Jodpräparate mit Imm. $\frac{1}{16}$, Okul. 4 betrachtet.

Der Erfolg dieser verschiedenen Färbungen war im allgemeinen ein gleichartiger. Stets erschien die Zellmembran und der erwähnte innere Substanzballen, soweit er noch erkennbar war, fast ungefärbt und nur die äußere Zellsubstanz hatte den Farbstoff festgehalten. Der innere Substanzballen stellt in diesen Präparaten meist nur einen mehr unregelmäßigen, kleinen, weißlichen Fleck dar, der schlecht begrenzt ist und kaum körniges Gefüge erkennen läßt. Manchmal findet sich in ihm wohl auch ein gefärbtes Körnchen vor oder deren mehrere. Die der Zellmembran anliegende äußere Zellsubstanz ist mehr oder weniger satt gefärbt und zeigt örtlich stets ein körniges Gefüge. So verhält es sich mit der inneren und äußeren Zellsubstanz wohl nur bei einem wenn auch großen Teil der Zellen, offenbar den jüngeren und proliferierenden. Es gibt aber noch Zellen, besonders unter den fadenbildenden, in denen die innere Substanz — vielleicht wohl weil sie beim Eintrocknen und Absterben in Zerfall geriet — kaum zu finden ist und in denen zugleich auch die färbbare äußere Zellsubstanz nur mehr in Resten besteht. Es finden sich Zellen mit einem Safranin

oder Hämatoxylin aufnehmenden, gefärbten Fleck, Korn, tropfenähnliche Gebilde oder auch mehreren Körnchen in einer ungefärbten, weißlichen Zellaubstanz, die den Zellkörper ganz erfüllt, also Zellen, in denen die beiden Substanzen, geschwunden und durch fremdartige ersetzt, ihrer Lage und Masse nach anscheinend ein dem gewöhnlichen entgegengesetztes Verhalten aufweisen.

Unter diesen oft höchst verwickelt erscheinenden Bildern beobachtete ich in einem Falle (Agarkultur) im Innern von mehreren fadenbildenden Zellen und auch von einzelnen elliptischen Zellen schön mit Hämatoxylin oder Safranin gefärbte sichelförmige Bildungen, die glatt begrenzt waren und helle Säume besaßen. Diese Sicheln erinnerten, abgesehen von der Gestalt, in ihrem Aussehen an die Askosporen in der Malzkörner-Rotweinkultur-Kahmhaut. Die sie enthaltenden Zellen besaßen keine färbare äußere Zellschicht mehr, sondern waren von den Sicheln ganz erfüllt. In einzelnen gestreckten Zellen von Pilzfäden konnte ich 4 solche der Länge nach aneinander gereihte, gleich große, gefärbte Sicheln bemerken, die abwechselnd mit der Konvexität nach einer Seite lagen. Die Membranen dieser Zellen waren, wie gesagt, völlig erhalten und geschlossen, abgesehen von den Sicheln, nur ungefärbte Substanz in sich.

Der beschriebene innere Substanzballen ist in Gram-Präparaten bei den verschiedensten Graden von Differenzierung nur selten als violettblau gefärbtes, umschriebenes, granuliertes Gebilde zur Darstellung zu bringen. Ebensovienig gelingt dies durch Anwendung des Schöfferschen Färbungsverfahrens¹⁾. Bei Behandlung mit Sudan tritt in ganz vereinzelt Zellen ein glänzender roter Punkt oder ein so beschaffenes Tröpfchen in der äußeren Substanz hervor. Dieses im allgemeinen negative Ergebnis bei Sudanbehandlung schließt wohl aus, daß der innere Substanzballen als ein fettartiger Zellinhalt aufgefaßt werden kann. Ich zweifle nicht daran, daß derselbe jenes Gebilde darstellt, das auch Vuillemin²⁾ bei Soor, besonders aber Busse³⁾, Janssens⁴⁾, Moeller⁵⁾ u. a. bei den Hefen gesehen, abgebildet und als Kern gedeutet haben. Der prinzipiellen Frage nach der Kernnatur dieser Gebilde kann ich mangels eingehender Untersuchungen nicht näher treten. Ihr geschildertes Verhalten gegenüber den Kernfarbstoffen begünstigt eine solche Auffassung nicht.

Im Anschlusse an diese Befunde, die die Zellen des aus dem Kleinhirnabszesse gezüchteten Pilzes darboten, bemerke ich noch, daß ich auch bei Hefe II ganz analoge Befunde erheben konnte.

Es soll nun noch in Kürze über die unternommenen Tierversuche und über die histologischen Befunde berichtet werden, die der besprochene Fall ergab.

Ich prüfte die Pathogenität des Pilzes des Kleinhirnabszesses durch Verimpfung kleiner Mengen von Kulturmaterial desselben auf Versuchstiere. Bisher nahm ich im ganzen erst fünf solche Impfversuche vor und zwar: Den 1. an einer weißen Ratte, der ich ca. $\frac{1}{5}$ ccm vom pilzhaltigen Kondensationswasser einer 3 Tage alten Agarkultur subkutan einverleibte; den 2., 3. und 4. an einer weißen Ratte, einem Meerschweinchen und einem Kaninchen, denen ich ca. $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{6}$ bzw. $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ bzw. $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ ccm mit Bouillon verdünnten Materials aus jener Gehirnbreikultur intrapleural einspritzte, welche wegen der in ihr vorgefundenen Sichel- und Halbmondformen früher erwähnt wurde; endlich den 5. an einem Meerschweinchen, dem ich ca. 1 ccm einer 2 Tage alten, bei 37° C gehaltenen Bouillonkultur in die Muskeln des linken Hinterbeines impfte. Bei dem 2. Versuche konnte ich beträchtliches allgemeines Uebelbefinden des Tieres am 2. und 3. Tage nach der Impfung beobachten, beim 1. und 5. vorübergehende, lokale, leichte Anschwellung im Impfgebiete; dann aber trat alsbald Genesung bzw. Abschwellung im Impfgebiete ein.

1) Schöffers, J., Verhandlungen des V. deutschen Dermatologenkongresses in Graz. 1895. p. 92.

2) Vuillemin, P., a. a. O.

3) Busse, O., Die Sproßpilze. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Kolle-Wassermann, Bd. I. 1903. p. 663, 674.)

4) Janssens, Fr., Beiträge zur Frage über den Kern der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. 1893. p. 639.)

5) Moeller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. p. 537.)

Was nun schließlich die histologischen Befunde anlangt, so wurden in Untersuchung genommen: 1) ein kleines keilförmiges Stück von der Basis der linken Kleinhirnhemisphäre, in dessen Bereich der Absceß hart an die Oberfläche vorreicht (siehe Fig. 8); 2) ein dünnes, vorspringendes Muskelbälkchen von der Wand einer Absceßbucht am Halse und 3) ein Segment vom untersten Halsmarke samt Dura und dem erwähnten pachymeningitischen Granulationsgewebe (siehe Fig. 7).

Mit Hämatoxylin-Eosin gefärbte Schnittpräparate von diesen in Celloidin eingebetteten Stücken lassen erkennen, daß eiterige Einschmelzung nicht nur in der Umgrenzung der erwähnten Abscesse, sondern auch in dem pachymeningitischen Granulationsgewebe vorhanden ist (siehe Fig. 7 und 8). In Gebieten eiteriger Infiltration und Auflösung der Gewebe bemerkt man oft auch herdförmige oder diffuse hämorrhagische Infiltration. Dabei schließen die Absceßherde entweder viele zerstreute kleine oder vereinzelte größere Flecke und Feldchen ein, die nur blasse Eosinfärbung annehmen, von meist feinkörniger Beschaffenheit und kernlos sind oder doch nur spärliche Kernreste enthalten. In einzelnen solchen Feldchen sind in diesen Präparaten lose Pilzfäden oder kleine Pilzfädengeflechte wahrnehmbar — wenn auch nur unscharf, da sie trotz bester Färbung der Präparate mit Hämatoxylin keine Farbe annehmen. Der größere Teil dieser kernlosen Flecke erweckt den Eindruck, als stellten sie nur Häufchen nekrobiotischer oder völlig nekrotischer, geblähter Zellen dar.

An die Randgebiete der Eiterherde grenzt meist ein großzelliges Granulationsgewebe an, dessen Gehalt an Lymphocyten sehr wechselt und das weite Kapillargefäße und Endothelzellen lose, in Reihen und Gruppen, oft reichlich enthält. Diese Zone ist meist schmal und geht über in ein dichteres spindelzellhaltiges Granulationsgewebe mit oft dichten Leukocyteninfiltraten und vielfach erweiterten Gefäßen. Solchen Charakter tragen namentlich die entzündlichen Gewebsveränderungen in den pachymeningitischen Herden in ausgeprägter Weise. In der Halsabsceßwand schließt das besonders verdichtete und geläßarme, spindelzellige Granulationsgewebe viele Muskelfaserreste in sich.

Nicht großzelliges Granulationsgewebe, sondern ein wechselnd breiter Streifen nekrotisierten Gewebes mit Faser-, Zell- und Gefäßresten umgrenzt die Eiterhöhle im Kleinhirnabsceß auf eine größere Strecke hin. Diese nekrobiotische Gewebszone ist auch, und zwar ganz besonders, von Blutungen eingenommen und örtlich in auffallender Weise von fibrinösem Exsudat durchsetzt. Erst außerhalb derselben findet sich Granulationsgewebe und zwar von vorwiegend spindelzelligem Charakter. Hier ließen sich — im Gegensatze zu dem früher erwähnten negativen Verhalten der Pilzfäden in den kernlosen Feldchen der Absceßherde gegenüber Hämatoxylin — in der geschilderten nekrobiotischen Zone und in den ihr zunächst liegenden Granulationen schon bei bloßer Hämatoxylin-Eosinfärbung¹⁾ dunkelblau tingierte, hellumsäumte, meist auch deutlich gegliederte und mitunter verzweigte Pilzfäden nachweisen. Hefezellformen des Pilzes, die die Hämatoxylinfarbe²⁾ ebenfalls gut angenommen haben und hell umrandet erscheinen, fanden sich hingegen in reicherm Maße in den Eiterschichten, die innen dem nekrobiotischen Grenzstreifen anliegen.

1) Vergl. C. Sternberg, Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen., (Beiträge z. pathol. Anat. u. zur allg. Pathologie. Red. von E. Ziegler. Bd. XXXIII. 1902. p. 98.)

2) Bei diesen Färbungen bediente ich mich, wie bei allen früheren, des von Ehrlich angegebenen sauren Hämatoxylins (bereitet nach dem Rezept J. Orth's im Kursus der normalen Histologie. 4. Aufl. 1886. p. 55).

Um alle etwa zu gewärtigenden Spaltpilze zu klarer Darstellung zu bringen, habe ich an sehr dünnen Celloidinschnitten von Gewebsstücken aus jeder der bezeichneten drei Stellen auch Färbungen nach dem Verfahren von Gram, Weigert und H. Kühne¹⁾ ausgeführt sowie auch einfache Karbol-Thionin- und Methylenblau-Tinktionen solcher Schnittpräparate mit nachfolgender Alkoholdifferenzierung vorgenommen. Die Versuche, die Pilzzellen und -fäden nach den Methoden von Gram, Weigert und Kühne zu färben, waren meist von schönem Erfolge²⁾ begleitet, die mit Methylenblau und Karbol-Thionin schlugen hingegen ganz fehl. Bei dem Gramschen und bei dem Weigertschens Verfahren wurde die Färbung der Gewebzellkerne [mittels Saffranin oder Kochenillealaun vorher ausgeführt.]

In Präparaten, die nach Grams, Weigerts und Kühnes Methode kräftig gefärbt waren, ließ sich erkennen, daß die früher geschilderten kernlosen Feldchen und Flecke in den Eiterherden, die bei Hämatoxylin-Eosinbehandlung so wenig Farbe angenommen hatten, die besonders pilzreichen, wenn auch nicht, wie gesagt, ausschließlich pilzhaltigen Teile sind. In der gleichmäßig grob- oder feinkörnigen, blaßroten Masse mancher dieser Flecke (siehe Fig. 4: 1 links und 2 links oben) liegen oft mehrere durch ihre Blauviolett-färbung (in Kühne-Präparaten Rotfärbung) scharf hervortretende Pilzfäden (siehe Fig. 4: links oben). Ab und zu trifft man darin nur ein einzelnes Fadensegment oder zu kleinen Häufchen geballte Pilzfäden; seltener jedoch ganze Geflechte von Fäden mit wurzelig radiärer Anordnung (siehe Fig. 6).

Bei Besichtigung der Präparate mit stärkeren Linsen sieht man vielfach, ganz unabhängig von kernlosen Flecken, lose und auch zusammenliegende Pilzfäden zwischen gut kerngefärbten Eiterkörperchen liegen (siehe Fig. 4), nicht aber bemerkt man dort große, drusige Geflechte von Pilzfäden. Alle diese fädigen Gebilde lassen meist keine Gliederung, wohl öfters Scheinverzweigung, aber kaum je echte Verzweigungen deutlich erkennen.

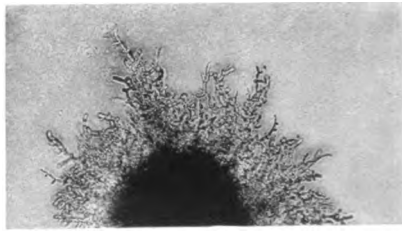
Außer in der Fadenform erscheint der Pilz in Schnittpräparaten von jeder der bezeichneten drei Stellen auch in der Form von Hefezellen (siehe Fig. 4 eine isolierte große Hefezellform [rechts oben] und eine kleine [rechts in der Mitte]), die, gleich wie die Pilzfäden, in den Gram- und Weigert-Präparaten blauviolett, in den Kühne-Präparaten rot gefärbt sind. Bei Betrachtung mit starken Objektiven fällt an diesen runden Pilzformen neben der gefärbten Zellsubstanz meist auch die Zellmembran als ungefärbter, hellglänzender Saum auf. Wo die Hefezellformen in größerer Anzahl vorhanden sind, wie z. B. in den äußeren Eiterschichten des Kleinhirnabscesses, liegen sie vorwiegend zwischen den Eiterzellen und zwar meist einzeln, jedoch auch zu 2, 3 und mehreren beisammen und stellen dann manchmal unverkennbare Sproßverbände dar; einzelne von ihnen fand ich jedoch auch in dem Protoplasma von (Eiter-)Zellen eingeschlossen. Oft sind die in Sproßverbänden zusammenliegenden Hefezellformen durch besonders breite und helle Säume voneinander geschieden, dabei auch ungleich groß und nicht durchgehends rund, sondern sichel- oder halbmondförmig gestaltet, während die im Eiter der Präparate isoliert liegenden Soorzellen bis auf ganz vereinzelt sichel- und halbmondförmig gestaltete, wie gesagt, vorwiegend die typische, runde oder ellipsoide Gestalt der Hefezellen darbieten und hierin sowie bezüglich ihrer Größe völlig mit jenen übereinstimmen, die der Pilz in Kulturen, namentlich in eiweißhaltigen, alkalischen Nährsubstraten, so in erstarrter Ascitesflüssigkeit, in zucker-

1) H. Kühnes Verfahren ist angegeben in der Abhandlung Ueber die phagoeytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen von E. Metschnikoff im Arch. f. pathol. Anatomie. Bd. CXIII. 1888. p. 72.

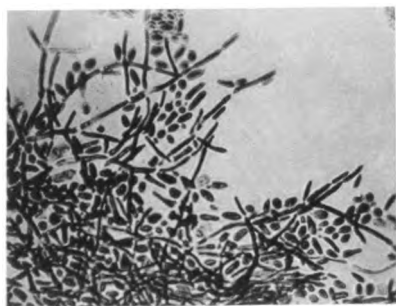
2) Vergl. Anm. 1. p. 512.



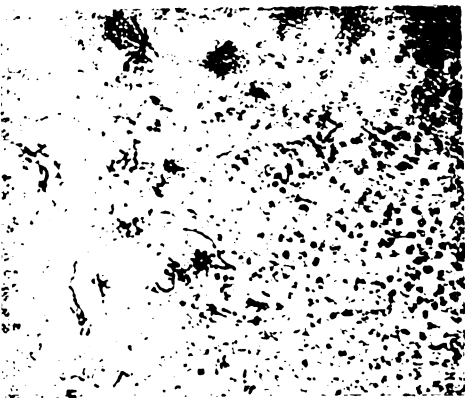
1



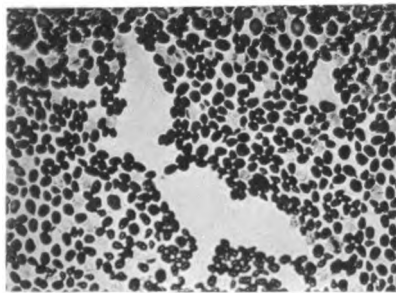
2



3



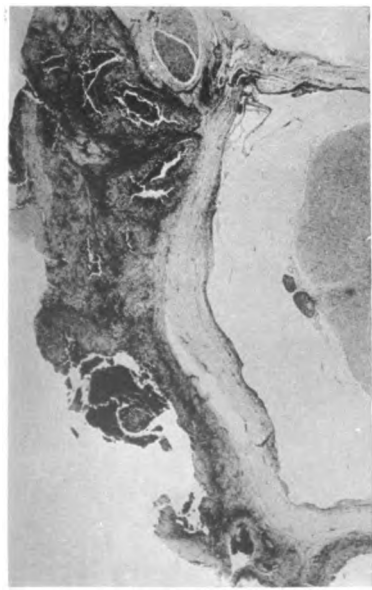
4



5



6



7



8

haltigem Hammelblutserum, in Leichenblut, gewöhnlichem Agar etc. zu bilden pflegt.

Ueberblicke ich schließlich die angeführten histologischen Befunde, so kann ich dieselben dahin zusammenfassen, daß alle die verschiedenen geschilderten Wuchsformen des Pilzes in den inneren Teilen des Kleinhirnbrunnens sich finden und zwar reichlicher als in den untersuchten Vereiterungsgebieten der pachymeningitischen Gewebsbildungen im Halswirbelkanale. In der nekrobiotischen und in der Granulationszone des Kleinhirnbrunnens sind jedoch fast nur Pilzfäden zu beobachten; in der Wand des Halsabscesses überwiegen die Hefezellformen die hier spärlich vorhandenen Pilzfäden.

Innsbruck, 11. Februar 1904.

Erklärung der Abbildungen.

Die Photogramme sind unter Benutzung von elektrischem Bogenlicht und Zettnows Kupferchromfilter mittels des C. Zeisschen mikrophotographischen Apparates des pathologisch-anatomischen Institutes von mir aufgenommen.

Fig. 1. Gelatineplattenkolonie mit Randsprossen vom Pilze des Kleinhirnbrunnens, 2 Tage alt, Vergr. 50 (Obj. 16 mm, Proj. Ok. 2).

Fig. 2. Agarplattenkolonie von demselben Pilze mit üppigeren Randsprossen, Vergr. 80 (Obj. 16 mm, Proj. Ok. 2).

Fig. 3. Faden-, Zweig- und Hefeformen desselben Pilzes aus dem Kondensationswasser einer Kartoffelkultur, gefärbt mit Alauntanninfuchsinlösung (nach der sogenannten amerikanischen Kapsel-färbungsmethode), eingelegt in Kanadabalsam. Vergr. 500 (Imm. 2 mm, Proj. Ok. 2).

Fig. 4. Gebiet des Kleinhirnbrunnens mit lose und in Häufchen zusammenliegenden Pilzfäden (links) und mit vereinzelt Hefeformen des Pilzes (rechts). Celloidinschnittpräparat nach Gram gefärbt. Vergr. 300 (Obj. 16 mm, Proj. Ok. 4, Tub. 160 mm).

Fig. 5. Hefeformen des Pilzes vom Kleinhirnbrunnens aus dem Kondensationswasser einer Ascitesflüssigkeitkultur, nach Gram gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Vergr. 500 (Imm. 2 mm, Proj. Ok. 2).

Fig. 6. Wurzelig-radiäres Pilzfädengeflecht aus dem Kleinhirnbrunnens. Nach Gram gefärbtes Celloidinschnittpräparat. Vergr. 400 (Obj. 16 mm, Proj. Ok. 4, Tub. 160 mm).

Fig. 7. Pachymeningitisches Granulationsgewebe der Dura spinalis im Bereiche des 7. Halswirbels mit Absceßherdchen (rechts Abschnitt vom Halsmark). Celloidinschnittpräparat gefärbt mit Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 5 (Anastigmat 167 mm).

Fig. 8. Gegen die Oberfläche vorgeifendes Randgebiet des Kleinhirnbrunnens. Die Eitermassen liegen an dieser Stelle in der höchst ausgedehnten Marklamelle einer Windung. Oertlich noch erhaltene Marksubstanzteile, besonders aber die Körnerschicht dieser Windung bilden die Grenze des Abscesses. Oben in der Mitte ist die gefaltete Pia zu erkennen, rechts und links davon liegen benachbarte Windungen mit unveränderter Molekular- und Körnerschicht. (Der Celloidinschnitt ist örtlich stark auseinandergewichen.) Hämatoxylin-Eosinfärbung. Vergr. 7 (Anastigmat 167 mm).

Nachdruck verboten.

A contribution to the study of pathogenic yeasts¹⁾.

By **Leo F. Rettger**,

Instructor in bacteriology in the Sheffield scientific school, Yale university.

With 2 plates.

It is only in very recent years that the existence of such a thing as a pathogenic yeast has been at all accepted. As late as 1891 Neu-

¹⁾ The publication of this paper has been delayed, owing to unavoidable circumstances.

mayer (1) made the statement that all yeasts are alike in that they never produce any injury to the animal organism when introduced subcutaneously. Further, that they resist the action of the digestive juices; but are harmless except when introduced along with fermentable substances. In the latter event they may bring about catarrh of the stomach.

We have only to refer to the work of such men as Busse, Sanfelice, Roncali and numerous other investigators, to regard Neumayer's statement as erroneous. In 1894 Busse (2) reported a case of chronic sub-periosteal inflammation of the tibia, in which he observed round and oval bodies of various sizes, and having the appearance of yeast. They were contained within a sort of tubercle, and were closely associated with the giant cells of the abnormal tissue. To this organism he later gave the name of "Saccharomycosis hominis". At about the same time Colpe (3) claims to have demonstrated the presence of a yeast-like organism in the cervical secretion of a patient suffering from "Endometritis cervicis".

In this connection we may mention the investigations of Fermi and Aruch (4), and Tokishige (5), on a disease known as "Lingafite epizootica" in Italy, and "Japanese Worm" in Japan, and which is not uncommon among the horses of those countries. The infection assumes the character of lymph nodules which spread over various parts of the body, and as a rule develop into numerous abscesses. From the abscesses these investigators succeeded in obtaining what to all appearances was a typical yeast.

Much to our knowledge of pathogenic yeasts we owe to Sanfelice (6) and Roncali (7), who succeeded not only in demonstrating the presence of yeasts in numerous cancer- and tumor-like growths in various parts of the body, but also in proving that these organisms, when introduced into the tissues of normal animals, are able to produce growths similar to those from which they were originally isolated. Maffucci and Sirleo (8) conclude from their own investigations of the subject, that there exists a blastomycete which has the power of producing chronic abnormal growths, and whose cell products may be carried from these local abnormalities along the lymph vessels; and secondly, that this parasite can destroy the cells in and about which it occurs, or may be destroyed by the cells, so that the product of the parasite may exist without the parasite itself.

Three months before Busse published his unique article Dr. Gilchrist gave a preliminary report on a case of what Dr. Duhring had diagnosed as scrofuladerma on the back of the hand, in which organisms of unusual type were met with and were pronounced by Dr. Gilchrist as being of vegetable origin. A detailed publication was delayed until 1896, when it appeared under the title of "A Case of Blastomycetic Dermatitis in Man" (9). The organisms were observed in well-defined miliary abscesses, and though larger than ordinary yeast cells, presented very much the same appearance. They occurred singly or in pairs, the latter in the process of budding. The protoplasm was granular and usually contained a vacuole.

In their inoculation experiments upon animals with a pure culture of yeast obtained from a human ulcer, Corselli and Frisco (10) demonstrated that the organism was able to produce similar ulcers in the animals, and even to cause death. Guinea-pigs died in 25—30 days;

rabbits in 30—35 days; and dogs in less than five days. The lymph vessels of the mesentery were enlarged, and the mesentery itself dotted with numerous small ulcers.

From the various cases reported it seems that practically all parts of the animal body are liable to yeast infection. Not only the bones, skin, mesentery etc., as mentioned above, but according to Sanfelice, Roncali and others, also the liver, kidney, pancreas, ovary, eye etc. Nesczadimenko (11) claims to have met with yeast cells in all the organs of a rat and guinea-pig which had died from general infection.

Several cases of blastomycetic infection of man have been reported in this country (12). The regions infected were the finger, hand, leg, foot, neck, back, lips, cheek, and eye-lid. In a few instances invasion occurred in different parts of the same body. In some cases, the infection assumed the form of lesions or miliary abscesses; while in others, it spread and presented the character of a cancer or tumor. Especially striking under this last type are the cases of Hektoen, Montgomery and Ricketts, and Hyde and Ricketts.

Within the last few years Sanfelice (13) followed up his earlier researches on pathogenic yeasts with an extended study of blastomycetes in their relation to anti-bodies in the blood, and has come to the conclusion that not only pathogenic, but also non-pathogenic yeasts are able to cause the production of anti-bodies in the blood-serum which have a pronounced "saccharomycolytic" and "blastomycolytic" action on the respective yeasts when the latter are introduced into the blood.

Through the agency of Prof. R. E. Lyons of Indiana University it was my privilege, while associated with him in that institution, to obtain a pure culture of a pathogenic yeast from Dr. Hessler of the Indiana Hospital for Insane. I shall briefly give the history of the organism as it was published by Dr. Hessler (14), and also offer the results of a number of observations that I made on the same organism:

While being shaved by a barber a healthy man received a slight razor cut on the neck, just under the chin and on a line at right angles with the mouth. In the course of a few days the wound healed. This was followed by the development, at the seat of injury, of a red oval papule half the size of a grain of wheat. The papule was hard and elevated, and remained stationary until about three months after the injury, when an inflamed and slightly elevated area as large as a silver quarter was seen surrounding the papule. This inflammation was observed while the patient was being shaved, and the irritation produced by the lathering may account for it, for on the following day it entirely disappeared. By this time, however, the nodule was bright red and came to a head. The abscess was opened aseptically and a little of the contents introduced into several tubes of sterile agar. Some of the pus was spread on cover-glasses and examined with the microscope; but no organisms were found. Other cover-glasses were coated with the more deep-seated pus, along with some blood. In these preparations yeast-like organisms were observed. They occurred chiefly within the pus cells, to which they gave the appearance of polynuclear leucocytes. In the inoculated agar tubes a white growth appeared after a few days of incubation, which subsequent examination proved to be a pure culture of yeast.

The abscess was thoroughly washed with carbolic acid, and in the course of several days all signs of active disturbance had disappeared. Some time after, a second papule appeared within threefourths of an inch of the first. By the application of disinfectants this was removed. So far as I am aware, no further evidence of growth has been observed.

It was from one of the original agar tubes that I directly obtained my material for the following observations.

Morphological Characteristics.

The organism is round or slightly oval, and when mature, from six to six and a half micra in diameter. In beerwort, however, it may attain a diameter of from nine to ten micra. Under certain conditions, and especially in animal tissues, the cells assume penicillium-like form, and long slender cells may be seen growing from a round or oval mother-cell. These branches often grow to considerable length, in some cases entirely crossing the field of the microscope (one-sixth inch objective). The yeast grows by the process of budding. As many as seven or eight daughter-cells may develop simultaneously from one mother-cell, and these in turn give rise each to as many cells of the following generation. Ordinarily one vacuole is present. As the yeast increases in size the vacuole grows larger. At this stage granules and fat globules are quite conspicuous. Occasionally there is no vacuole; and in turn, there may be as many as five or six. The cells all have a transparent outer envelope.

Cultural Characteristics.

In bouillon pronounced growth occurs in 24 hours at 37° C. The sediment is fine, of a whitish appearance and quickly settles on standing. The organism grows very rapidly; according to Dr. Hessler. the cells may double in number within one hour. At room temperature, however, the organism grows very slowly. Occasionally penicillium-like forms are met with, but ordinarily the cells are round, or nearly so (Plate I).

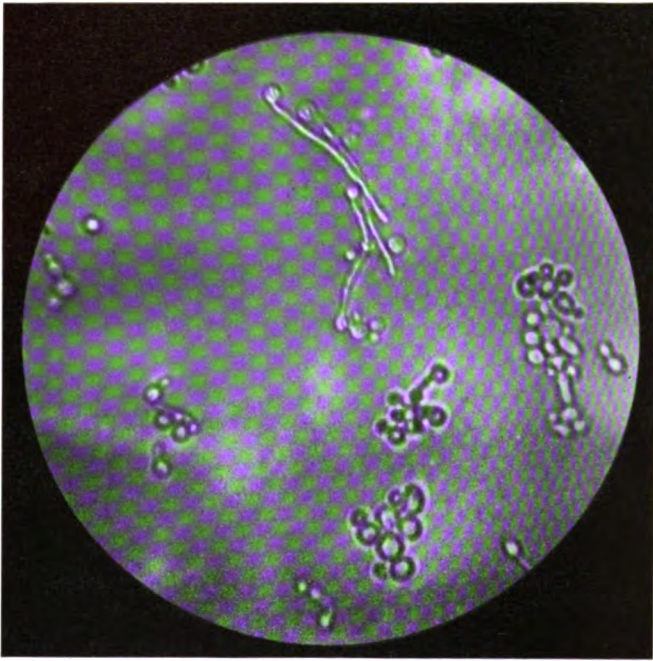
On gelatin plates small, white, round colonies make their appearance in 24 hours, at 20—22° C. The colonies are thin and the individual yeast cells may be seen by means of an inch objective. Within 48 hours the colonies become dense, white, slightly elevated masses, which upon hard gelatin (11—12%) are round and regular, but on soft gelatin (9—10%) have a more or less ragged outline. The gelatin is not liquefied, even after prolonged growth.

In gelatin stick culture a heavy growth occurs along the line of inoculation in 48 hours, at 20—22° C. The growth is slightly ragged.

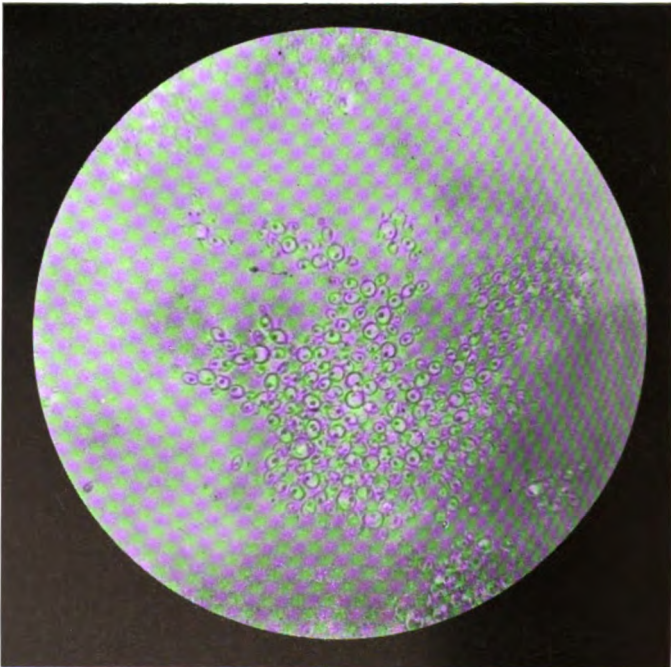
On agar plates dense white colonies make their appearance in 24 hours, at 37° C. They are round and regular, and have an opaque dense centre. The individual yeast cells may be distinguished at the edge of the colony, by means of an inch objective.

In agar stick culture a heavy white growth occurs in 24 hours along the line of inoculation and for some distance on the surface of the agar.

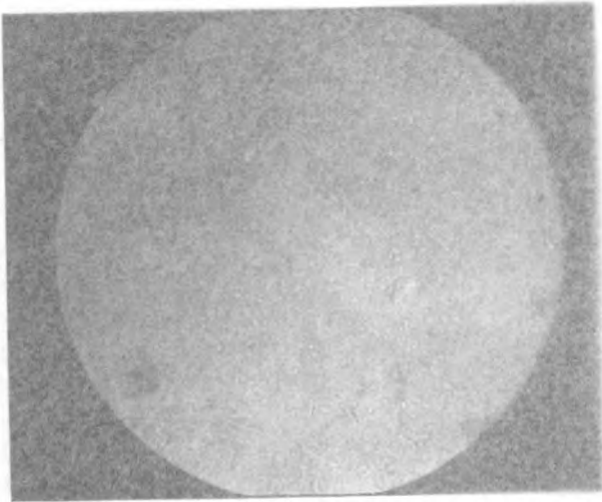
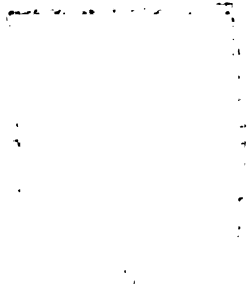
On slant agar a thick white growth is produced in 24 hours, at 37° C. It is confined to the surface and covers the latter for some distance from the inoculation streak. The edge is only slightly irregular. On glycerine agar the coat has somewhat the appearance of a white film.



I.



II.



IV.

In Uschinsky's Fluid and in Voges and Fraenkel's Solution abundant development occurs in 24 hours, at 37° C. The sediment and individual cells have the same appearance as in bouillon.

In beerwort a heavy grayish sediment is formed in 36 hours, at 37° C. In from six to eight days a thin grayish scum appears. The yeast cells in both sediment and scum are alike as to form and size. They are almost round, as in bouillon, but are peculiar in that they often grow to enormous size (9—10 μ), and in that they possess a large vacuole which contains a very conspicuous granule; the latter possesses Brownian motion (Plate II).

On potato a growth of light cream color is developed in 24 hours, at incubator temperature. The growth is almost regular and confined to the inoculation line. In the course of five or six days it becomes broad and raised, and has a cheesy appearance.

On beet a coarsely granular streak appears in 24 hours, at 37° C. The growth is heavier and less regular than on potato (Plate III).

On blood serum pronounced growth occurs in 36 hours, at 37° C. It is of light cream color and is confined to the inoculation streak.

In aqueous sugar solutions the organism develops comparatively slowly. Milk sugar is the most favorable. Very little growth occurs in two per cent grape sugar, while it is more pronounced in a 15—20% solution. The yeast possesses no inverting or diastatic power, as there is no development whatever in cane sugar solutions or in starch paste. The presence of peptone in grape sugar solutions favors growth.

In the complete absence of atmospheric oxygen (in an atmosphere of hydrogen, for example), the yeast fails to develop. In the presence of very small quantities of oxygen, however, development may occur.

Chemical Products.

There is no production of carbonic acid gas; and none, or at the most, very little of alcohol. When grown in fermentation tubes in 10% grape sugar, 10% milk sugar or in bouillon, no generation of carbonic acid can be observed, even though a sediment is produced in the liquid. The yeast produces no acidity in the ordinary culture media, nor in those containing sugar. It does not coagulate milk. Neither is there any suggestion of indol and skatol, or phenol. An attempt to isolate a toxic substance from a bouillon culture of the yeast, by the method of Brieger, proved unsuccessful.

Department toward Germicides.

The organism is very resistant to the ordinary germicides. Test tubes containing ten cubic centimeters of sterile bouillon were inoculated and incubated for 24 hours. Definite quantities of the disinfectants were then introduced and the tubes incubated two hours more. Subcultures were made from these tubes and examined after 24 hours incubation. Solutions of the following strength were required to kill the yeast under the above conditions:

Corrosive sublimate, 1 : 5000.

Carbolic acid, 1 : 160.

Mixture of equal parts of carbolic acid and soft soap respectively, 1 : 300 and 1 : 220.

Cresol, 1 : 200.

The following solutions failed to destroy the life of the organism:

Listerine, 1 : 5.

Salicylic acid, 1 : 400.

Quinine, 1 : 100.

Borax, 1 : 12.

Potash-alum, 1 : 10.

Small quantities of mineral acids and caustic alkalies likewise failed to kill the organism. After an exposure for two hours to 0.4—0.5% hydrochloric acid, or 1.5—2% sodium hydroxide, it was still able to develop when brought into bouillon or beerwort.

Alcohol in small quantities hinders growth. Five per cent alcohol is sufficient to entirely prevent it.

The organism is very sensitive to direct sunlight. Agar colonies exposed to the direct rays of the sun for 12 hours (35° C) developed very slowly, even after 24 hours of incubation.

The optimum temperature for growth of the organism is 37—38° C. The thermal deathpoint (hot) is 55—58° C (moist) and 75—80° C (dry), for a duration of fifteen minutes. After exposure to a temperature of from 20° to 25° C for thirty minutes, the cells still retain life.

The length of life of the individual cells is considerable. In a dry state, and without nourishment (on cotton), they may retain vitality from four to five weeks, at the temperature of the room.

Depoiment toward Stains and Strong Alkali.

With iodine the yeast cells stain with great difficulty. When grown on artificial media the protoplasm stains readily with dilute solutions of anilin dyes, and by Gram's method. The envelope, however, remains unstained. With infected tissues I have been unable to obtain any satisfactory results whatever, either with the ordinary stains, by Gram's method, or the methods of Sanfelice, Roncali and others. Whether this is due to the fact that the cells undergo a change in their staining properties, or are so distorted in the process of staining that they cannot be distinguished from the tissue cells, I have been unable to discover. The presence of the yeast cells may be demonstrated in infected tissues, however, by the use of strong soda solution, a method so advantageously used by Busse, and later by other investigators. The animal tissue is completely disintegrated by teasing in moderately strong solution of caustic soda, while the yeast cells are apparently unaffected. In this way I have repeatedly obtained satisfactory results (Plate IV).

Spores.

Spore formation in this yeast was at no time observed. Repeated attempts to obtain positive results were made on plaster of Paris blocks with sediments from bouillon, water suspension of agar scrapings and with beerwort, and at temperatures varying from 15° to 39° C. In every case the investigation extended over at least a period of from five to six days, and in a few instances of more than two weeks. The cells reproduce and multiply by a process of budding alone.

Inoculation Experiments.

Eight rabbits, two white mice, a pigeon and a guinea pig were inoculated. Pure cultures of the yeast were introduced under the skin or into the peritoneal cavity, with a sterile hypodermic needle.

Rabbit I. Subcutaneous injection of 0.5 ccm of a bouillon culture on the left side.

Within 36 hours a slightly swollen area was observed near the needle puncture. In 48 hours the nodule grew to about the size of a bean. From the interior of this nodule I obtained a pure culture of yeast in bouillon and beerwort. The swelling soon disappeared and the animal regained its normal appearance.

Rabbit II. Peritoneal cavity inoculated with 0,5 ccm of a water suspension of agar scrapings.

In 36 hours the abdomen became very much swollen, as if distended with gas. On the third day the swelling subsided. The rabbit was killed and the mesentery was found to be covered with numerous white spots about the size of a pin head. There were also a few white patches on the surface of the liver. On treatment of these patches with caustic soda, and on further examination in glycerine, numerous yeast cells were observed, of which the majority were almost round while others were penicillium-like.

Rabbit III. Subcutaneous injection of 0,5 ccm of a bouillon culture on the right side¹⁾.

Within 60 hours after the inoculation there was an inflamed and swollen area immediately above the point of inoculation. Twelve hours later the nodule had attained the size of a hazel-nut and rapidly developed into a mature abscess. On the following day the abscess broke and discharged pus. On the sixth day the wound was covered with a scab, but was still inflamed and swollen. From the discharged pus pure yeast cultures were obtained in beerwort.

Rabbit IV. Inoculation in the left outer ear with 0,4 ccm of a water suspension of agar scrapings.

After 72 hours the ear was inflamed at the point of inoculation. On the fourth day the inflammation had almost entirely disappeared, but at this time nodules containing pus were observed above the inflamed area. On the fifth day these nodules were enlarged; they were yellow and discharged pus which contained yeast cells in large numbers. The abscesses alternately healed and broke at short intervals for a week or more. At the end of the second week the ear had regained its normal appearance.

Rabbit V. Subcutaneous inoculation on the left side with 0,5 ccm of a bouillon culture.

During the 48 hours following the inoculation a hard nodule developed of about the size of a peanut kernel. The swelling extended along a lymph vessel for more than an inch down the side of the abdomen, and reached its maximum development in about four days. At this stage the animal was killed and an examination of the abnormal tissue was made. Yeast cells of various forms were met with. Some were round or oval, while others were branched and elongated, and presented a distorted appearance. The swelling was confined to the subcutaneous connective tissue. The yeast cells were present only in the area of swelling, and were not found in other tissues or in the blood.

Rabbit VI. Subcutaneous inoculation of the right side with 0,6 ccm of a bouillon culture. Three days later a similar injection in the left side.

The animal died on the fifth day after the first inoculation. Besides the occurrence of subcutaneous nodules at the points of inoculation, the surface of the liver was marked with a number of white areas the size

1) The culture material used for inoculation purposes was in every instance less than 36 hours old.

of a grain of wheat. A similar white area was found in one of the lobes. On staining these abnormal parts by the original method of Sanfelice, and by the method as modified by Roncali, I was unable to identify any yeast-like organisms. From the blood of the heart and lung was isolated what appeared to be a peculiar degeneration form of the yeast which I had not previously met with in any of the cultures or tissues, and which I have observed only once since. The organism was almost round, and as large as the average yeast cells; but appeared to be completely filled with a vacuole, and possessed a double membrane or contour. Attached to this body was a smaller cell likewise round, whose protoplasmic contents were undifferentiated. In some instances two or three of these smaller cells were attached to the wall of the larger body. This is probably a degeneration form of the yeast.

Rabbit VII. Intra-peritoneal inoculation with 0,5 ccm of a bouillon culture.

There was no visible effect except that the animal became more or less emaciated.

Rabbit VIII. Subcutaneous injection of 0,6 ccm of a bouillon culture in the right side.

Within 39 hours after the inoculation the abdomen became quite distended. The swelling subsided on the fourth day, but the animal continued to be stupid and rapidly grew very emaciated. It died on the tenth day. There were several white patches on the liver, and also a whitish abscess on the abdomen at the point of inoculation. The latter was hard and the nodular swelling was entirely confined to the layers of connective tissue beneath the skin. Inoculation experiments with the blood from the heart, liver and spleen, and with the liver spots, gave negative results. The urine also was free from yeast. The subcutaneous nodule, however, contained numerous yeast cells, both round and filament forms (Plate IV).

White Mouse I. Subcutaneous inoculation below the left shoulder with 0,4 ccm of a bouillon culture.

There was no visible effect except a slight swelling at the point of inoculation.

White Mouse II. Injection of 0,5 ccm of a bouillon culture into the peritoneal cavity.

Soon after the inoculation a small nodule made its appearance at the point of the needle puncture. In the course of four to five days this nodule developed into an abscess and broke, discharging some pus. The mouse grew stupid and became stiff in the hind legs. On the eleventh day it died. The mesentery was covered with a mass of small, cheesy abscess. There were also several small nodules on the liver and heart. On inoculating tubes of beerwort with the pus from the various abscesses, and with the contents of the liver nodules, I obtained pure cultures of the original yeast. In the blood of the heart the same peculiar form of the organism was again met with that was observed previously in the blood of the heart and lung of Rabbit VI. On microscopic examination the abscesses and nodules were found to contain numerous round and villiform yeast cells.

Pigeon. Subcutaneous inoculation on the breast to the right of the keel, with 0,5 ccm of a bouillon culture.

In 36 hours a swollen area was visible at the point of inoculation, and a little beyond this a second and larger area. The swellings continued to increase until the fourth day. The smaller nodule contained pus.

The same pigeon was then inoculated on the left side of the keel. In 48 hours a nodule of the size of a bean appeared at the site of the injection. The pigeon was killed and examined. The nodules contained numerous yeast cells which were principally of mycelium form and were so numerous as to appear under the microscope like an intricate mycelium network. They were of various sizes, but seemed to be in no way distorted or degenerated.

Guinea Pig. Intra-peritoneal injection of 0,6 ccm of a bouillon culture.

There was no visible effect during the five or six days following the inoculation. On the thirteenth day, however, an abscess as large as a walnut was observed on the abdomen in the region where the needle pierced the body wall. The abscess broke on the fifteenth day and liberated a large quantity of grayish pus. The discharge of pus continued for two days, at the end of which time the abscess began to heal and the swelling subsided. 26 days after the inoculation a second abscess made its appearance below the site of the first, but disappeared again in the course of a few days. The pus of the large abscess gave in bouillon a pure culture of the yeast.

Conclusion.

The organism under consideration is unquestionably pathogenic. When introduced into normal animal tissue it is able to bring about disturbances and pathological conditions, and as demonstrated above, even to cause the death of the most susceptible animals. While it appears to be destroyed by the blood elements in the larger blood vessels, it is nevertheless able to persist in certain of the tissues, whence it distributes its toxic products. Morphologically it closely resembles ordinary bread yeast, but in its choice of nutrient media and in its modes of growth it is distinctly different. Contrary to common yeasts, it grows best at incubator temperature and in the usual culture media. It develops very slowly in sugar solutions, and produces no alcoholic fermentation. Its complete diagnosis does not correspond with that of any of the pathogenic yeasts which to my knowledge have as yet been studied. In several particulars it resembles the pathogenic yeast recently observed by Klein (15) in cow's milk though in many respects the two are markedly different. Both may be easily cultivated on the ordinary nutrient media, especially glucose-agar and glucose-bouillon. Neither produces spores; nor do they ferment grape sugar, milk-sugar or cane sugar. In spite of the absence of spores both show a strong resistance to starvation and drying. Finally, each has the predominating tendency to produce nodular swelling and tumor-like growths, when injected subcutaneously. In this particular, however, the yeast under consideration resembles a number of those previously described by other investigators. The organism is a unique one, and with due honor to Dr. Hessler to whose notice it first came, it would not be out of place to call it "Blastomyces hessleri".

I wish to acknowledge my indebtedness to Prof. R. E. Lyons of Indiana University, by whose kindness I obtained this yeast and with whose cooperation I was enabled to carry on this investigation.

References.

- 1) Arch. f. Hyg. Bd. XII. 1891. p. 1.
- 2) Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. Bd. XVI. 1894. p. 175; and Bd. XVII. 1895. p. 719.
- 3) Arch. f. Gyn. Bd. XLVII. 1894. p. 635.
- 4) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVII. 1895. p. 593.
- 5) Botanic Gazette. Jan.—June 1896. p. 181; and Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1896. p. 105.
- 6) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVII. 1895. p. 113 u. 625; Bd. XVIII. 1895. p. 521; Bd. XX. 1896. p. 219. Baumgartens Jahresbericht. Bd. XII. 1896. p. 654.
- 7) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895. p. 353 and 432.
- 8) Baumgartens Jahresbericht. Bd. XI. 1895. p. 467—470.
- 9) Johns Hopkins Hosp. Rep. 1896. p. 269.
- 10) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895. p. 368.
- 11) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899. p. 55.
- 12)
 - 1) Gilchrist (see 9).
 - 2) Gilchrist-Stokes, Journ. of Experim. Med. Vol. III. 1898. No. 1.
 - 3) Wells, New York Med. Journ. March 26. 1898.
 - 4) Schenk, Bull. Johns Hopkins Hosp. Dec. 1898.
 - 5) Hektoen; Journ. of Experim. Med. Vol. IV. 1899. No. 3—4.
 - 6) Hyde-Hektoen; Brit. Journ. of Dermatol. Vol. XI. No. 129.
 - 7) Owens, Ann. of Surg. Nov. 1899.
 - 8) Coates, Medicine. Feb. 1900.
 - 9) Brayton, Indiana Med. Journ. April 1900.
 - 10) Dyer, Journ. of Cutan. and Gen.-Urin. Dis. Jan. 1901.
 - 11) and 12) Montgomery-Rickets, Journ. of Cutan. and Gen.-Urin. Dis. Jan. 1901.
 - 13) Montgomery, Journ. of Cutan. and Gen.-Urin. Dis. Jan. 1901.
 - 14) and 15) Hyde-Rickets, Journ. of Cutan. and Gen.-Urin. Dis. Jan. 1901.
 - 16) Gaylord; American Journ. of the Med. Sciences. May 1901.
- 13) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902. p. 360 and 892.
- 14) Indiana Med. Journ. Aug. 1898.
- 15) Journ. of Hyg. Vol. I. 1901. p. 90. See also, Centralbl. f. Bakt. etc. (E. Cohn). Bd. XXXI. 1902. p. 736.

Nachdruck verboten.

Neue Untersuchungen über die Aetiologie der malignen Geschwülste.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Messina.]

Von Prof. **Francesco Sanfelice.**

Der größte Teil meiner Arbeiten über die pathogene Wirksamkeit der Sproßpilze basierte auf der Beobachtung eines aus der Luft isolierten Saccharomyceten, der mit beachtenswerter Pathogenität, nicht bloß für Meerschweinchen und Kaninchen, sondern auch für Hunde ausgerüstet ist. Wenn nun eine aus dem Luftmedium entnommene Hefe an Versuchstieren bedeutende anatomisch-pathologische Veränderungen hervorbrachte, so ließ sich a priori schließen, daß bei gebotener Gelegenheit aus dem tierischen Krankheitsherd einer so erzeugten Schädigung selbst eine Hefenart zu isolieren sei, welche, auf Tiere von der gleichen Species übertragen, Tatsachen von weit größerer Tragweite zur Beobachtung liefern würde. Wenn man daher einen Blastomyceten glücklich aus dem Tumor eines Hundes isolierte und die Reinkultur auf andere verimpfte, so erschien die Hoffnung, auf diese Weise Geschwülste hervorzubringen, begründeter als bei der Infektion mit Kulturen einer aus der Luft isolierten Hefe. Vor Jahren war es mir gelungen, einen Sproßpilz

aus den Bauchlymphdrüsen eines dem Leberkrebs erlegenen Ochsen zu züchten. Wäre die Möglichkeit vorhanden gewesen, an Tieren der gleichen Art eine Reihe von Impfversuchen mit den Kulturen oder dem Parasiten selbst vorzunehmen, so hätte ich sicher auf Resultate von höherer Bedeutung rechnen dürfen, als die Experimente an Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden in der Tat ergaben. Das Gleiche gilt für Hefekulturen aus anatomisch-pathologischen Läsionen des Menschen. Es wäre von den aus einem menschlichen Tumor gezüchteten Pilzen zu viel verlangt, dieselbe Geschwulst an den gewöhnlichen Versuchstieren hervorzubringen. Die größte Aussicht auf positive Resultate hat stets die Infektion von Individuum zu Individuum von der gleichen Species.

Aehnlich wie mir erging es der Mehrzahl der anderen Autoren, die ihre Mühe mit Erfolg dem gleichen Ziel gewidmet haben. Busse stellte über die pathogene Wirkung der Sproßhefen eine Menge von Untersuchungen an, indem er einen aus dem menschlichen Körper isolierten Parasiten auf die gebräuchlichen Versuchstiere übertrug. Plimmer züchtete aus einem Menschentumor einen pathogenen Hefepilz und nahm mit dessen Reinkulturen zahlreiche Inokulationen an Versuchstieren vor. Ebenso hat Leopold die Parasiten aus bösartigen Geschwülsten seiner Patienten isoliert und nur mit diesen Kulturen Impfversuche an Kaninchen und Meerschweinchen angestellt. Wenn nun alle diese Beobachter, auf der gleichen Bahn fortschreitend, — gewiß nicht der besten, um ans Ziel zu kommen — dennoch erhebliche Erfolge davontrugen und meine Behauptung von der ätiologischen Bedeutsamkeit der Sproßpilze in Bezug auf die Genesis der malignen Geschwülste bestätigt haben, erhellt da etwa nicht die logische Berechtigung der Ansicht, daß jene Forscher noch viel bedeutsamere Resultate erzielt hätten, wenn es ihnen gelungen wäre, die Hefen aus dem tierischen Infektionsherd zu isolieren und Individuen der gleichen Tierart damit zu impfen?

Das Studium der Genesis der malignen Geschwülste ist nicht so leicht, daß es gestattet wäre, von der genauen Feststellung der Grenzen abzusehen, auf welche sich das Feld der diesem Gegenstand angewiesenen Untersuchungen beschränken muß. Es hieße z. B. jene Grenzen überschreiten, wenn man sämtliche gewöhnlich in der Luft verbreiteten Hefen isolieren und damit, durch Impfen der gebräuchlichen Versuchstiere, Carcinome und Sarkome erzeugen wollte; alles nur in der Absicht, darzutun, daß die Blastomyceten mit der Genesis der bösartigen Tumoren nichts zu schaffen haben. Es gelang mir in 10 Jahren diesem Gegenstand gewidmeter Arbeit nur ein einziges Mal — 1895 — aus der Luft einen Hefepilz von beachtenswerter Pathogenität zu isolieren, den *Saccharomyces neoformans*. Ebensoweit entfernten sich von jenen Grenzen auch diejenigen, welche, die Nichtigkeit der auf pathogene Wirkung der Sproßpilze gestützten Parasitärtheorie der malignen Geschwülste zu beleuchten, aus menschlichen Carcinomen und Sarkomen Sproßpilze zu isolieren suchten und, durchaus nicht sicher, ob diese aus dem Medium oder aus den Tumoren stammen, durch Infektion von Kaninchen und Meerschweinchen Krebs und Sarkome zu stande bringen wollten. Und doch ist die Zahl der Arbeiten, die sich jene Aufgabe stellten und in den letzten Jahren im Druck erschienen sind, nicht gering. Niederreißen ist ja viel, viel bequemer als aufbauen. Und auf Grund schlechter, eigener Forschungen ist man schnell zum Widerspruch bereit und behauptet, was andere versichert haben, sei gänzlich falsch. Erst nachdem

ich mit *Saccharomyces neoformans* an Hunden viele Infektionsversuche vorgenommen und positive Erfolge erzielt hatte, welche an Prozentsatz die von jenen Untersuchern publizierten um vieles überstiegen, verfocht ich die Wichtigkeit der Sproßpilze in der Genesis der malignen Geschwülste. Hätte ich bei den ersten Mißerfolgen die Waffen niedergelegt, so wäre es mir nicht eingefallen, Schlüsse zu ziehen. Die Umstände, welche bis dahin meine Forschungen begleitet hatten, waren der Beweisführung zu Gunsten der ätiologischen Bedeutung der Blastomyceten in Bezug auf die bösartigen Tumoren nichts weniger als günstig, da nur ein aus der Luft isolierter Pilz zur Verfügung stand; dennoch gelangte ich durch immer von neuem wiederholte Experimente zu Resultaten, welche durch andere Forscher bestätigt wurden. Groß an Zahl waren die Einwände, mit denen man mich beehrt hat, aber keiner derselben ist, wie wir später sehen werden, stichhaltig genug, die Wichtigkeit meiner Erfolge zu schmälern.

Als günstigste Bedingungen, die einem Beobachter zur Seite stehen können, um den Beweis für den parasitären Ursprung der malignen Tumoren zu führen, sind folgende zu betrachten: 1) Bei dem Isolieren eines Blastomyceten aus der Geschwulst einer gegebenen Tierart soll absolute Gewißheit über die Abstammung des Parasiten aus jenem Infektionsherd, und nicht aus dem Medium, herrschen; 2) zahlreiche Injektionen mit Reinkulturen an Tieren der gleichen Species, wobei der Prozentsatz an positiven Resultaten den an nicht geimpften Kontrolltieren beobachten, übersteigen soll.

Sind diese Bedingungen erfüllt und fallen zahlreiche Inokulationsversuche an den Tieren positiv aus, so kann die ätiologische Bedeutung des isolierten Parasiten nicht verkannt werden.

In Geschwülsten, die schon längere Zeit andauerten, trifft man allerdings nicht allzuhäufig Parasiten in dem Zustande an, der sie zur Kultur auf künstlichen Nährböden geeignet macht. Die Kultivierbarkeit hängt nämlich von der Gestalt ab, unter der sie sich in frischen Präparaten zeigen. Schabt man die Schnittfläche eines Tumors mit dem Messer ab und betrachtet das abgeschabte Material bei starker Vergrößerung, so entscheidet es sich sofort, ob die Parasiten in künstlichen Nährmedien zur Entwicklung gelangen können oder nicht. Treten sie als Kapseln auf, so besitzen sie das Reproduktionsvermögen, erscheinen sie dagegen einzeln oder gruppenweise als hyaline Kugeln, so haben sie die Fähigkeit, künstlich wieder belebt zu werden, verloren.

Die Umgestaltung der Sproßhefen in hyaline Kugeln oder Russelsche Fuchsinkörperchen erfolgt im Organismus, wie ich schon in früheren Arbeiten nachwies, unter der Einwirkung eines Antikörpers, der infolge Absterbens einiger Blastomyceten und Absorption ihrer Proteine im Blutserum entsteht. Die Volumvergrößerung des Tumors steht unstreitig in Verbindung mit der mehr oder weniger rapiden Verwandlung der Parasiten in hyaline Kugeln oder Russelsche Körperchen. Eine Serie zahlreicher in dieser Richtung vorgenommener Untersuchungen hat zur Evidenz erwiesen, daß in Geschwülsten, deren Wachstum stockt, die Parasiten als Fuchsinkörperchen erscheinen, während in den Tumoren, die sich noch im Stadium fortwährender Volumzunahme befinden, neben den in Russelsche Körperchen umgewandelten Parasiten auch solche in Kapselform auftreten.

Leider gibt es einen Uebelstand dabei; so leicht es ist, in den vielen mikroskopischen Schnitten von Geschwülsten mit ansehnlichem

Umfang die Parasiten zu erkennen, um so schwerer fällt das Züchten, da man doch nicht den ganzen Tumor zur Kultur verwenden kann.

* * *

Ein Tumor aus der Scheide einer im städtischen Hundestall getöteten Hündin wurde zum Ausgangspunkt einer neuen Serie von Studien über die Aetiologie der malignen Geschwülste.

Da eine ausführliche Beschreibung aller bereits gemachten und noch kommenden Beobachtungen im Gesamtwerk erscheinen wird, beschränke ich mich hier auf die kurze Mitteilung einiger Resultate.

Der untersuchte Tumor, vom Umfang und Aussehen einer großen mit Beulen versehenen Kastanie und von harter Konsistenz, war mit der Vaginalhaut durch einen kurzen Stiel verbunden und von der Mucosa bedeckt. Nach der Reinigung seiner glatten, nicht ulcerierten Oberfläche durch wiederholtes Waschen mit sterilem Wasser nahm ich mit einer an der Flamme sterilisierten Klinge einen Medianschnitt vor. Die größtenteils grünweiße Schnittfläche zeigte an der dem Stiel gegenüberliegenden Seite eine rötliche Zone in Halbmondform. Mit gleichfalls sterilisiertem Messer schabte ich die Oberfläche des Schnittes ausgiebig ab und nahm das Material unter das Mikroskop. Zwischen den eigentlichen Geschwulstelementen zeigten sich runde Körperchen mit stark lichtbrechender Membran und homogenem Protoplasmahalt, worin ein oder mehrere, ebenfalls lichtbrechende Körnchen schwammen. Ich erkannte sie sofort als Blastomyceten. Dieser mikroskopischen Untersuchung der Geschwulst wohnte Kollege Prof. D'Urso von der chirurgischen Klinik bei. In jedem Präparat von mehreren neu vorgenommenen Schnitten zeigten sich 5—10 Parasiten. Sobald die Gegenwart derselben im frischen Präparat konstatiert war, schritt ich zur Aussaat auf Agar und Kartoffeln. Behufs Agarkultur wurde das mit sterilisierter Klinge von der Schnittfläche Abgeschabte in dem flüssig gemachten Agar zu Emulsion verteilt, verdünnt und in Petrische Schalen ausgegossen. Zur Züchtung auf Kartoffeln versäete ich das Abschabsel direkt auf der Oberfläche derselben.

Sowohl in den Flachkulturen in Agar als in denen auf Kartoffeln gingen aus dem Hefepilz Kulturen hervor, die ich weiter unten beschreiben werde.

Im vorliegenden Falle ging schon bei der bloßen mikroskopischen Untersuchung mit Sicherheit die Tatsache hervor, daß die Parasiten von dem Tumor selbst herrührten und von Verunreinigung keine Rede sein konnte.

In der Tat wissen wir, daß die Parasiten sich im Gewebe auf durchaus andere Weise präsentieren als in Kulturen. Treten sie in den Geweben auf, so besitzen sie die lichtbrechende Membran, um deren Außenseite sich hier und da noch eine Glashaut anschließt. Die letztere ist übrigens mit Leichtigkeit auch an den bloß mit der lichtbrechenden Membran ausgerüsteten Formen hervorzubringen, indem man am Deckglasrand 1 Tropfen Essigsäure sich ausbreiten läßt. Handelte es sich dagegen um aus der Luft gekommene Hefen, so würden sie nicht gekapselt erscheinen; und wären sie von der Schleimhautoberfläche der Vagina ins Innere der Geschwulst durchgesickert, so würden sie häufiger und in größerer Zahl an der Außenseite auftreten, seltener und weniger zahlreich dagegen, je mehr sie sich dem Mittelpunkt näherten; ein Bild, das unserer mikroskopischen Beobachtung widerspricht. Noch

mehr: wäre die Gegenwart der Parasiten accidentell gewesen, mit anderen Worten, hätten sie nur durch Zufall von der Oberfläche des Tumors den Weg ins Innere gefunden, so wären keine Spuren inneren Zusammenhanges zwischen dem Parasiten und der histologischen Struktur der Geschwulst zum Vorschein gekommen, während es sich im Gegenteil an den Schnitten zeigte, daß die Evolution des Neoplasma zu der topographischen Verteilung der Hefepilze in direkter inniger Beziehung stand.

Die von Prof. D'Urso bestätigte histologische Diagnose der Geschwulst lautete auf Sarkom.

Nach der mikroskopischen Feststellung der Gegenwart von Sproßpilzen und während die Kulturen sich selbst überlassen blieben, schritt ich zum Impfen kleiner Abschnitzel der Geschwulst auf Hunde. Zwei Hündinnen und vier Hunde wurden infiziert, wobei zu erwähnen ist, daß das tumorkranke Tier morgens 7 Uhr getötet wurde und die Impfungen gegen 11 Uhr stattfanden. Das erste Weibchen erhielt die Inokulation in das submuköse Bindegewebe der Vagina, an deren linkem Bord; genau an der Stelle, wo Cutis und Schleimhaut zusammenstoßen, ward ein Einschnitt gemacht, durch Ablösen des Bindegewebes eine Art Tasche hergestellt, das Tumorstückchen hineingelegt und die Ränder zugenäht. Bei der zweiten Hündin nahm man die subkutane Impfung an einer Mammilla vor. Von den vier Männchen wurde das eine in die Tunica vaginalis des rechten Hodens, die übrigen drei in das subkutane Bindegewebe des Präputium okuliert.

* * *

Saccharomyces canis — ich schlage diese Bezeichnung für den neuen Sproßpilz vor — wächst ebenso gut auf neutral oder leicht alkalisch reagierenden Nährmedien (Agargelatine) als in solchen, die infolge von Weinstein säurezusatz sauer reagieren.

Bei Zimmertemperatur (15–20° C) entwickeln sich auf den Agarplatten nach einigen Tagen größere Oberflächen- und kleinere Tiefkulturen. Erstere rund, von der Größe eines Stecknadelkopfes, und weißer Farbe, erheben sich kuppelartig über die Nährbodenfläche, die zweiten sind bedeutend kleiner, zeigen scharf abgegrenzte Ränder und hellgelbe Färbung.

Bei schwacher Vergrößerung unterscheidet man, besonders in den Oberflächenkolonien, die runden aneinander gereihten Pilze sehr gut voneinander.

Die Stichkulturen in Agar wachsen ziemlich üppig an der Oberfläche und längs der Impfstelle. Auf der Oberfläche findet die Bildung eines weißen, feucht aussehenden Belages mit sauberen Rändern statt; längs der Impfstelle entsteht aus den einander nahegerückten Kolonien ein weißer Strich.

War der Agar im Röhrchen in schiefer Lage erstarrt, so nimmt man an der Oberfläche die Bildung einer weißen, homogenen Haut mit glatten Rändern wahr.

Sehr charakteristisch ist die Kultur auf Kartoffeln. In den ersten Tagen nach der Aussaat entsteht ein dünnes Häutchen, das, Tag für Tag dichter werdend, sich von der Nährbodenfläche abhebt und eine dunkelbraune Färbung annimmt. Der Belag hat ein trockenes Aussehen, scharfgezeichnete Ränder und eine warzige Oberfläche. Auf dem leichter trocknenden Teil der Kartoffel erscheinen mit der Zeit weiße Körnchen, in welchen man unter dem Mikroskop von einer glänzenden Substanz

mit einander verbundene Hefengruppen erkennt. Behandelt man dieselben mit verdünnter Säure, so löst sich das Bindemittel unter Gasentwicklung auf und die einzelnen Elemente der Gruppen werden in Freiheit gesetzt.

In Traubenzucker oder Weinsteinsäure enthaltender Nährbouillon gezüchtet, entwickelt sich *Saccharomyces canis* mit üppigem Wachstum, unter Bildung des sogenannten Schleiers (Kahm), der, besonders in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, Gasbläschen einschließt.

Wenn man die auf einem der vorerwähnten Nährmedien gezüchteten Sproßpilze im hängenden Tropfen beobachtet, so unterscheidet man kleine und große Körper von runder Form; die ersteren (kleinen) erscheinen ohne erkennbare Membran, mit durchaus homogenem Inhalt; die anderen (großen) zeigen eine sichtbare Membran und Protoplasma, das aus zweierlei Substanzen, einer stark lichtbrechenden und einer hyalinen, zusammengesetzt ist. Die lichtbrechende nimmt als großes Korn den Mittelpunkt ein oder bildet eine Anzahl mehr oder weniger großer, mehr oder weniger zahlreicher Granuli, die meist vereinigt in der Mitte liegen.

Der Vermehrungsprozeß der Blastomyceten findet durch Knospen statt.

Bildung von Mycelien oder aus einer einzigen runden Zelle bestehenden Hyphen ist an den Kulturen von *Saccharomyces canis* nie wahrzunehmen. In den Geweben der Meerschweinchen und Kaninchen dagegen entwickeln sich, wie wir später sehen werden, aus den runden Elementen Fäden oder — meist kurze, häufig mit Anschwellungen versehene — Hyphen.

Wie aus dem bisher Gesagten klar hervorgeht, stimmen die Eigenschaften des *Saccharomyces canis* sowohl in morphologischer Hinsicht als was das Wachstum auf Nährböden betrifft, genau mit denjenigen des *Saccharomyces neoformans*, des *Saccharomyces lithogenes* und jener anderen pathogenen Sproßhefe überein, welche ich vor Jahren aus einem Carcinom des Ovariums isoliert und dessen Pathogenität an Meerschweinchen und Kaninchen Sternberg, auf eine Reihe von Tierversuchen gestützt, bestätigt hat.

Ebenso erwähnte ich schon in früheren Arbeiten der pathogenen Hefe Plimmers, deren morphologische und kulturelle Charaktere von denen des *Saccharomyces neoformans* gleichfalls nicht differieren. Definitiv festgestellt ward diese Tatsache neuerdings, als mir Plimmer seine Kulturen selbst zustellte und ich sie mit den von mir isolierten direkt vergleichen konnte.

Liest man Busses Beschreibung des von ihm isolierten *Saccharomyces hominis*, so macht sich der klare Eindruck geltend, daß die angeführten morphologischen Merkmale des Pilzes und sein Wachstumsverhalten in Kulturen die gleichen sind wie bei *Saccharomyces neoformans*. Damit identisch erscheinen ebenso, nach Curtis Beschreibung, die Eigenschaften seines *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens*.

Als Facit geht aus alledem die Folgerung hervor, daß die wichtigsten der bis heute beschriebenen, für Menschen und Tiere krankheits-erregenden Sproßhefen, was Morphologie und Kulturen betrifft, gemeinsame Eigenschaften besitzen und daher mit Bestimmtheit in eine und dieselbe Gruppe zusammenzufassen sind.

* * *

Reinkulturen von *Saccharomyces canis* sind bis jetzt auf Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen und Hunde verimpft worden und offenbarten für alle diese Tiere hochgradig pathogene Wirkungsfähigkeit.

Den Kaninchen und Meerschweinchen wurden subkutane, abdominale und endovenöse Injektionen beigebracht, die Katzen nur in die Ader und die Hunde endovenös und an den Brustwarzen und dem Unterhautbindegewebe des Präputium infiziert.

Von 3 im subkutanen Bindegewebe geimpften Kaninchen erlag das erste nach 16, das zweite nach 18, das dritte nach 20 Tagen. 2 nach dem gleichen Modus behandelte Meerschweinchen starben das erste nach 18, das zweite nach 20 Tagen. Der Bauchhöhleinokulation erlag von 2 Kaninchen das eine nach 10, das andere nach 16 Tagen und von 2 an der gleichen Stelle geimpften Meerschweinchen das eine nach 10, das andere nach 15 Tagen.

An Jugularinjektion starb von 5 Kaninchen das erste nach 6, zwei andere nach 7, das folgende nach 13 und das letzte nach 14 Tagen. Von 2 Meerschweinchen überlebte die Blutinfektion das eine 12, das andere 14 Tage.

2 der Jugulareinimpfung unterworfenen Katzen starben nach 15 resp. 25 Tagen; 2 ebenso behandelte Hunde nach 25 resp. 32 Tagen.

Der Sektionsbefund ergab bei den infolge subkutaner Einimpfung gestorbenen Kaninchen an der Impfstelle eine gelblich gefärbte Masse von Bohnengröße. Beim Öffnen der Kapsel, welche das Bindegewebe darum gebildet hatte, zeigte sich im Innern eine eiterartige Substanz, die sich unter dem Mikroskop als ein Gemengsel, bestehend aus Riesenzellen und Leukocyten nebst intrazellulären und freien Sproßhefen, größtenteils in kalkiger Degenerationsform, herausstellte. In der Umgebung der Impfstelle erschienen die Lymphdrüsen in Achselhöhlen und Leisten bedeutend vergrößert. An den Abdominal- und Brustkastenorganen sind mit bloßem Auge keine Veränderungen wahrzunehmen. Der mikroskopischen Untersuchung gelingt es nur in den der Impfstelle zunächst liegenden Lymphdrüsen Parasiten zu entdecken. Kulturen, die man aus den letztgenannten Infektionsherden züchtet, geben positive Resultate; negativ dagegen fallen Kulturversuche aus den Organen aus. An den der subkutanen Inokulation zum Opfer gefallenem Meerschweinchen förderte die Autopsie nahe bei der Impfstelle eine haselnußgroße Geschwulst zu Tage, die, an Cutis und Muskeln mit breiter Basis haftend, eine gelbliche Farbe und die Konsistenz von Fischfleisch zeigte. Die Lymphdrüsen der Achselhöhlen und Leisten erschienen in der Umgebung der Impfstelle bis zu Bohnengröße angeschwollen; Lunge, Leber, Nieren und Milz zeigten Läsionen in Gestalt von gelblich-weißen Knötchen und Grinden. In sämtlichen beschädigten Organen ließ sich sowohl durch mikroskopische Untersuchung als durch Züchtungsversuche die Gegenwart der Parasiten nachweisen.

Die schädigende Wirkung der Abdominalimpfung kam bei der Sektion der gestorbenen Kaninchen und Meerschweinchen im großen Netz zum Vorschein, in Gestalt hanfsamen- bis erbsengroßer gelblicher Knötchen; an Zwerchfell, Leber, Nieren und Milz in Form von Knötchen von gleicher Farbe und Konsistenz. An den Lungen war nichts Derartiges wahrzunehmen.

Bei Versuchstieren derselben Spezies, die infolge endovenöser Einimpfung gestorben waren, zeigten sich, besonders an der Milz, der Leber, den Nieren und den Lungen ansehnliche Veränderungen, ähnlich wie die oben beschriebenen, aber von weit größerer Ausdehnung.

Die an Kaninchen und Meerschweinchen durch *Saccharomyces canis* hervorgebrachten Infektionserscheinungen gleichen durchweg den von *Saccharomyces neoformans* und dem pathogenen Blastomyceten Plimmers erzeugten. Die Neubildungen, die man in den Geweben beobachtet, finden eher auf Kosten der Parasiten statt, als daß sie von dem Ueberwuchern der Gewebeelemente bestritten würden. Aus diesem Grunde kann auch von Neoplasie im wahren Sinne des Wortes, d. h. von Neubildung der Gewebe, bei diesen Tieren nicht die Rede sein. Andererseits drängt sich aber dem aufmerksamen Beobachter von Schnitten einiger Organe — besonders der Lunge — von Kaninchen und Meerschweinchen, die an subkutaner Infektion gestorben waren, die Erscheinung einer mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderung auf, wo Neubildung von Zellelementen der Alveolenbekleidung ganz klar zu Tage tritt, unter gänzlichem Fehlen jener histologischen Eigentümlichkeiten, welche durch chronische Entzündung hervorgerufene Geschwülste — die Granulome — auszeichnen. Die eingehende Beschreibung dieser Läsionen wird im Gesamtwerk erscheinen und zugleich die Feststellung der Unterschiede zwischen Neubildungen und Granulomen zur Sprache kommen.

Die Wachstumsformen der Parasiten, wie sie in den Geweben der Kaninchen und Meerschweinchen auftreten, sind durchaus identisch mit denen, welche bereits bei *Saccharomyces neoformans*, bei dem von Plimmer isolierten pathogenen Sproßpilz und bei Busses *Saccharomyces hominis* beschrieben wurden. Betreffs *Saccharomyces canis* muß noch beigefügt werden, daß er häufiger als *Saccharomyces neoformans*, seltener als *Saccharomyces lithogenes* die Neigung verrät, sich — namentlich in den Nieren — in Gestalt von Gruppen kalkig degenerierter Parasiten zu zeigen.

Katzen, die an endovenöser Einimpfung des *Saccharomyces canis* zu Grunde gingen, bieten der Beobachtung vorzugsweise an Milz und Nieren wichtige Schädigungen dar.

Auch an den Hunden, welche dem gleichen Inokulationsmodus erlegen waren, ließ sich bedeutende Läsion der Nieren, der Milz und der Darm- und Lungenlymphdrüsen konstatieren.

An sämtlichen Versuchstieren, die infolge Einimpfung des *Saccharomyces canis* gestorben waren, fiel ein starkes Abmagern auf.

Von den mittels Tumorstückchen infizierten 6 Hunden gelangte nur bei einem, und zwar bei der in das submuköse Bindegewebe der Vagina geimpften Hündin, eine maligne Geschwulst zur Entwicklung, deren Beschreibung ich im Gesamtwerk nachfolgen lasse. Das Tier starb nach ungefähr 4 Monaten, ein Bild entsetzlicher Abmagerung. An den 5 übrigen Hunden war nichts zu bemerken.

Der Prozentsatz an positiven Resultaten, die dieser Infektionsmodus — durch Inokulation kleiner Bruchstücke von Tumor — geliefert hat, beläuft sich somit auf 16,6 Proz.

Vergleicht man nun diese Zahl mit den 4,7 Proz. von Casper und den 5,8 Proz. von John e erzielten Carcinom- und Sarkomfällen, so erscheint es unstatthaft, anzunehmen, daß der von mir beobachtete Tumor der Hündin sein Entstehen nicht der Einimpfung der Parasiten verdanke. Es wird mir wahrlich zu großer Genugtuung gereichen, wenn andere Beobachter alle von mir ausgeführten Experimente wiederholen wollen, und bin ich daher mit Vergnügen bereit, dahin zielenden Begehren durch Zusendung von Kulturen des *Saccharomyces canis*

entgegenzukommen. Das Endergebnis der dargelegten Tatsachen lautet dahin, daß aus dem malignen Tumor eines Hundes in Reinkultur eine Hefe isoliert wurde, und daß durch Einimpfung der Parasiten auf andere Hunde ein positives Resultat zu stande kam. Hierauf gestützt, glaube ich die Wichtigkeit der Blastomyceten für die Genesis der malignen Geschwüre könne nicht mehr in Zweifel gezogen werden; sowie ich andererseits es nicht für möglich halte, die Hypothese von der Zufälligkeit ihres Auftretens in den Tumoren aufrecht zu halten.

* * *

Nun bin ich — nicht aus Hang zur Polemik, was mir fern läge, sondern lediglich zu Ehren der tatsächlich erkannten Wahrheit' — auf einige Ausstellungen Busses in einem neulich erschienenen Sammelwerk¹⁾ eine Antwort schuldig. Mit Bezug auf die mittels intravenöser Einimpfungen des *Saccharomyces neoformans* von mir an Hunden erreichten Resultate schreibt der Autor: „Impft er (Sanfelice) solche Blastomyceten in die Jugularvene, so findet er in den verschiedensten Organen gelblichweiße Knötchen, die aus gewucherten Bindegewebszellen bestehen, die Hefen in der gewöhnlichen Form enthalten und durch Züchtung wiedergewinnen lassen. Sanfelice deutet diese kleinen Knötchen, die ja allem Anscheine nach als Reaktion des Gewebes auf die eingeschwemmten Pilze aufzufassen sind, als die Anfänge wirklicher Geschwulstbildung, während sie doch in Wirklichkeit nichts weiter darstellen als kleine Entzündungsherde, durch die sich die Organe der Eindringlinge erwehren.“

In früheren Arbeiten stellte ich die Behauptung auf, daß an Hunden, die an den Folgen endovenöser Injektion von pathogenen Sproßhefen umkamen, Läsionen erscheinen, die weder den Aufbau gewöhnlicher Entzündungsherde zeigen, noch mit den gewohnten Granulomen etwas gemein haben. Alle die bekannten Granulome stimmen so ziemlich in ihrer Struktur überein und stellen durchweg die regressive Phase mit vom Mittelpunkt ausgehender Degeneration des Zellgewebes dar. Bei den Neubildungen an Hunden finden wir dagegen weder den typischen Granulombau, noch ist jemals eine Rückschrittsphase zu entdecken. Die histologische Differenz zwischen einer Niere mit Granulom und einer durch Blastomyceten veränderten Niere ist ganz enorm; während die letztere (von Hefen geschädigte) von einer mit sarkomatöser Metastase behafteten Niere fast nicht zu unterscheiden ist. In meiner Sammlung befindet sich eine Menge von Präparaten aus menschlichen Nieren in Sarkometastase, die ein identisches Aussehen haben wie Nierenpräparate aus einigen an endovenöser Hefeninfektion gestorbenen Hunden. Wozu denn da von Entzündungen sprechen, wenn die hauptsächlichsten Merkmale einer Entzündung fehlen?

Die Umgestaltung der Blastomyceten in Fuchsin- oder Russelsche Körperchen, welche ich zur Sprache gebracht und nachgewiesen habe²⁾, gibt Busse Anlaß zu folgender Bemerkung: „Sanfelice hingegen findet bei Hunden und Katzen Körperchen, die ganz anders aussehen als die lebenden Formen von *Saccharomyces neoformans* und

1) Busse, Die Sproßpilze. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Wassermann und Kollé. 1903.)

2) Sanfelice, Die Morphologie der Blastomyceten im Organismus in Bezug auf die Antikörper des Blutserums. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXXII. 1902.)

sich auch auf keine Weise züchten lassen, und er schließt nun, daß diese den Russelschen Fuchsinkörperchen entsprechenden Gebilde eine andere Erscheinungsform der Blastomyceten darstellen. Diese Wachstumsform sollen sie bilden, sobald sie sich dem Tierkörper adaptiert haben, und diese Anpassung an den Tierkörper soll nun andererseits ihre ganzen Lebensbedingungen so geändert haben, daß sie eben auf künstlichen Nährböden außerhalb des Körpers nicht mehr zu züchten sind. Es bedarf wohl keiner langen Auseinandersetzung, um darzutun, daß die Hypothese weder durch die Versuche Sanfelices gestützt noch durch irgend welche Analogieen in der Naturgeschichte wahrscheinlich gemacht wird.“

In der citierten Schrift handelt es sich um den Nachweis, daß in dem Falle, wo den Venen von Katzen gleichzeitig das Blutserum eines mit Hefenproteinen behandelten Hundes und *Saccharomyces neoformans*-Kulturen eingespritzt wurden, die Umwandlung der Hefen in Russelsche Körperchen stattfand. Eine ganz identische Transformation geht an einigen pathogenen Mikroorganismen vor, als Folge der Bildung von spezifischen Antikörpern, und wird Bakteriolyse genannt. Aus diesem Grunde schlug ich zur Bezeichnung des Vorgangs der Sproßhefenumbildung in Fuchsinkörperchen den Terminus *Saccharomycetolyse* vor. Ist diese Transformation der Blastomyceten unter dem Einfluß des Antikörpers im Serum einmal vollendet, so haben jene die Eigenschaft, auf den gewohnten Nährböden zu wachsen, eingebüßt, analog der Erscheinung, welche bei vielen der Bakteriolyse erliegenden pathogenen Mikroorganismen vorkommt. Aus alledem geht deutlich hervor, daß Busse meine oben citierte neuere Arbeit nicht gelesen hat; seine Kritik bezieht sich vielmehr auf eine vor verschiedenen Jahren erschienene Schrift, welche die Behauptung enthielt, daß bei dem Verimpfen von *Saccharomyces neoformans* auf Katzen die Bildung von Fuchsinkörperchen stattfindet; dabei wurde diese Tatsache aber nicht erläutert, indem ich den Verlust der Zuchtfähigkeit der umgebildeten Sproßhefen ihrer Anpassung an parasitäre Lebensbedingungen zuschrieb. Darin bin ich übrigens mit Busse einig, daß der Pathologie keine Beispiele von pathogenen Mikroben bekannt sind, welche im Tierkörper parasitär zu leben gewöhnt, künstlich nicht mehr gezüchtet werden könnten. Niemand hat bisher Kulturen der echten Lepra-bacillen zu stande gebracht; auch das Züchten der Tuberkelbacillen ist bei vielen chronischen Tuberkuloseformen kein leichtes Unternehmen, noch sieht man stets Kulturen von *Streptothrix actinomyces* aus jedem beliebigen Tumor der Actinomycosis aufgehen.

Was die Geschwülste betrifft, die ich durch Einimpfung von *Saccharomyces neoformans* an Hunden erzeugte, wendet Busse ein: „Sanfelice beschreibt im Jahre 1898 an 2 Hunden Veränderungen, die nach Text und Abbildungen zu schließen, tatsächlich Tumoren, und zwar Adenocarcinome zu sein scheinen. Beide sind im Anschluß an Impfungen mit *Saccharomyces* entstanden, der eine in der Brustdrüse, der andere in dem Hoden. Die Geschwülste enthalten aber keine der gewöhnlichen Hefenform, noch lassen sich Blastomyceten daraus züchten. Vielmehr findet Sanfelice die vorher erwähnten Russelschen Körperchen darin und behauptet, sie wären die veränderten Hefen und die Erreger der Geschwülste. Die Tatsache, daß hier 2 Geschwülste bei Hunden entstanden sind in Organen, in denen Sanfelice experimentiert hat, ist ja allerdings auffällig, dennoch trage ich stärkste Be-

denken, sie ohne weiteres mit den eingimpften Hefen in Beziehung zu bringen.“

Die gleiche Einwendung erging auch von seiten Baumgartens und Nichols an mich, doch ohne irgendwelche solide Grundlage, während ich von meinem Standpunkte aus als positive Resultate der Einimpfung von *Saccharomyces neoformans* auf Hunde den schönen Prozentsatz von 10,3 ins Feld führen kann, also mit bedeutend mehr, als Casper (4,7) und John e (5,8) aufwiesen.

Busse stellt nicht in Abrede, daß in einer großen Anzahl maligner Geschwülste Blastomyceten vorkommen und sich daraus züchten lassen, allein er schreibt ihr Auftreten auf Rechnung des Zufalls, wie schon aus der Frequenz in den ulzerierten Geschwüren hervorzugehen scheine. Hierauf gestützt gibt er auch zu, um das positive Resultat zu erklären, das Leopold mit nicht ulzerierten Drüsencarcinomen des Eierstockes erhalten hatte, daß diese Ovariumgeschwülste die Metastase eines ulzerierten Magenkrebses darstellen. Hätte Busse nur auch für Aufklärung der Ursachen gesorgt, aus welchen die Sproßhefen gerade den Aufenthalt in ulzerierten bösartigen Geschwülsten vorziehen und ihn bei anderen Krankheitsprozessen, wo gleichfalls Eiterung auftritt, verschmähen. Busses Behauptung, die Hefen seien ausschließlich in eiternden malignen Tumoren zu finden, ist überhaupt nicht stichhaltig, zählt die Literatur doch mehrere Fälle auf (siehe Plimmer, Corselli und Frisco), wo Sproßhefen aus nicht ulzerierten Tumoren isoliert worden sind. Wie würde nun Busse hier die Anwesenheit der Parasiten auslegen? Vielleicht auf die gleiche Art wie Bonome, indem er die Symbiosis zu Hilfe rief und dann könnten wir uns am Ende ja verständigen; denn um Zusammenleben handelt es sich schließlich bei allen infektiösen Krankheitsvorgängen — solange keiner der beiden Konviventen, Wirt oder Gast, zu Grunde geht. Allein das ist der Punkt, wo die Uebereinstimmung wieder in die Brüche geht; denn bei der echten Symbiose leben beide Teile ineinander zu Gefallen und zum Vorteil, während in unserem Falle der eine das Bestreben hat, den anderen zu schädigen und aus dem Wege zu schaffen. Dort Symbiose zu gemeinschaftlichem Nutzen, hier Symbiose zu gegenseitigem Verderben. Ebenso fehlt einigen weiteren Einwänden, auf die wieder andere Beobachter hinweisen, jeglicher Gehalt. Zum Beispiel wird den Fuchsinkörperchen kurzweg die Eigenschaft von Sproßhefen abgesprochen, indem man sie einfach als Form von Zellendegeneration darstellt und ihrer Gegenwart in den malignen Geschwüren allen ätiologischen Wert abspricht, weil sie bei anderen pathologischen Prozessen auftreten. Was den ersten Einwand betrifft, so habe ich bereits gesagt, daß wir der Umwandlung der Blastomyceten in Fuchsinkörperchen beiwohnen können, wenn man Katzen und Hunde zugleich mit den Sproßpilzkulturen und dem Serum von Tieren impft, deren Unterbindegewebe Injektionen von *Blastomyces*-proteinen erhalten hatten. Das Aussehen solcher Präparate ist von so großer Evidenz, daß beim ersten Blick auf ein einziges derselben die Tatsache sich ganz überzeugend aufdrängt.

Auch hat das Erscheinen von Russelschen Körperchen in anderen, von dem malignen Tumor verschiedenen pathologischen Geweben durchaus nichts, was Verwunderung erregen könnte. Die gewöhnlichen Sproßhefen, die man auf Schleimhäuten und auf der Cutis findet, sind zur Transformation in Fuchsinkörperchen fähig. Wohl treten die pathogenen Spaltpilze unter verschiedenen Gestalten auf, bei den Sproßhefen da-

gegen gibt es keine morphologischen Differenzen, sie haben in den Geweben ein identisches Aussehen. Ließe man jenen Einwand gelten, so müßte man auch noch andere pathogenen Mikroorganismen von jeder ätiologischen Wichtigkeit entkleiden, einzig und allein weil sie hie und da in den Geweben des gesunden Organismus angetroffen werden.

In Bezug auf die Kapselform der Blastomyceten, welche die Beobachter früher als zu Konidien gehörend beschrieben haben, so wird heute fast allgemein anerkannt, daß sie nicht als Entartung von Zellen aufzufassen sind. Die Unterschiede zwischen intrazellulären Sproßhefeformen und Degenerationsformen fallen dermaßen auf, daß sie niemandem entgehen können, der sich jemals aufmerksam mit dem Gegenstand beschäftigt hat.

Wächst durch Züchtung aus einem malignen Tumor eine Sproßhefe auf, so darf man die Kultur nicht ohne weiteres dem Zufall zuschreiben, wenn die mikroskopische Untersuchung im frischen Präparat die typische Kapselform von Blastomyceten aufwies. Fördert die Untersuchung langwieriger, bösartiger Geschwülste keine kulturfähigen Blastomycetenformen zu Tage, dann allerdings muß beim Gelingen einer Kultur das Erscheinen als ein zufälliges betrachtet werden. So oft beim Studium frischer Präparate aus malignem Tumor mir unter vielen keines kulturfähige Formen zeigte, so oft blieben die Züchtungsversuche auf Kartoffeln steril; traten etwa in einem Röhrchen Kolonien wilder Hefen auf, so sah ich sie a priori für ein Produkt des Zufalls an und ersparte mir das Impfen auf Versuchstiere.

Der Grund der Sterilität von Sproßhefen, die aus alten Geschwüren herrühren, liegt in der Transformation in Fuchsinkörperchen. War diese Umwandlung eine komplette, so muß auf jede Hoffnung, Kulturen zu erleben, verzichtet werden; war sie nur partiell, so ist die Erwartung gestattet, daß sich bei häufig wiederholter Aussaat auf Kartoffeln die Hefen isolieren lassen.

Sind wir einmal im Besitz aus einem Tumor stammender Kulturen, so überträgt man sie, um eine ansehnliche Zahl positiver Resultate zu erhalten, durch Einimpfung von Tier auf Tier der gleichen Spezies. Aus den experimentell durch die Injektion von gezüchteten Parasiten erzeugten Geschwülsten lassen sich von neuem auf den ersten Entwicklungsstufen stehende Kulturen ziehen, wenn sich noch nicht alle Parasiten in Fuchsinkörperchen verwandelt hatten. Die Renitenz der Blastomyceten gegen kulturelle Reproduktion ist daher kein guter Grund, um die Parasiten ihrer Bedeutung in der Genesis der malignen Geschwülste zu berauben.

Messina, Dezember 1903.

Nachdruck verboten.

Nachweisung des spezifischen Parasiten in einem Falle von Tollwut beim Menschen¹⁾.

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie und Histologie der k. Universität Pavia. (Vorstand: Prof. C. Golgi.)]

Von **Lina Luzzani**, stud. med.

Mit 1 Tafel.

In der Sitzung der Società medico-chirurgica zu Pavia vom 27. März v. J. hob Dr. Negri bei der Mitteilung der Resultate seiner Studien über die Aetiologie der Tollwut hervor (1), daß im Nervensystem der wutkranken Tiere unter bestimmten Bedingungen stets ein besonderer Mikroorganismus vorhanden sei, der seiner Ansicht nach unter die Protozoen eingereiht werden muß. Dieser Mikroorganismus, den man nur bei der Wutinfektion antrifft und den man als den spezifischen Erreger der Krankheit betrachten muß, wird in den Nervenzellen der verschiedenen Teile der cerebrospinalen Achse vorgefunden, und zwar in verschiedener Verteilung, je nach den Fällen. Negri hat ihn beschrieben in den Nervenzellen des Ammonshornes, in denen der Hirnrinde, in den Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns, in den Zellen der Nuclei der Basis, der Brücke, des verlängerten Markes, des Rückenmarkes, der Ganglien. In allen diesen Gegenden findet sich der Parasit immer in den Nervenzellen oder im Innern des Zellenkörpers oder in den Protoplasmafortsätzen, zuweilen auch in großer Entfernung vom Zellenkörper.

Man färbt ihn nach verschiedenen Methoden, am besten nach der Mannschen Methode mit Methylenblau-Eosin; man erkennt ihn aber auch sehr gut im frischen Zustande ohne irgend welche Färbung.

Die Form und die Dimensionen dieses Mikroorganismus sind sehr mannigfaltig: Von den rundlichen oder leicht ovalen von 1—1,5 μ im Durchmesser, durch eine ganze Reihe von Formen mit zunehmendem Durchmesser, gelangt man zu sehr großen elliptischen oder birnförmigen oder länglichen Parasiten, von denen einige sogar von 27 μ auf eine Breite von ungefähr 5 μ erreichen. In der experimentellen Hundswut hat man den Parasiten von den größten Dimensionen.

Dieses Protozoon, von welcher Größe es immer sein mag, zeigt beständig eine sehr feine und charakteristische innere Struktur. In seinem Innern kann man immer in verschiedener Zahl je nach den Dimensionen, die es erreicht hat, eigentümliche Formationen bemerken, die als rundliche oder eiförmige Körperchen erscheinen. Diese inneren Formationen des Parasiten trifft man in beständiger Weise; klar differenzierbar durch die Färbung, beobachtet man sie auch mit der größten Deutlichkeit in den parasitären Formen, die keiner technischen Behandlung unterzogen werden.

Endlich bewahrt das Negrische Protozoon seine Lebensfähigkeit und behält unverändert seine charakteristischen Eigenschaften der Form, des Baues, der Färbbarkeit trotz der Fäulnis oder längerer Immersion in Glycerin.

1) Die Resultate dieser Untersuchungen samt den betreffenden Präparaten wurden der Società medico-chirurgica zu Pavia in der Sitzung vom 22. Januar mitgeteilt.

Das sind kurz die Schlußfolgerungen der ersten Negrischen Note über die Aetiologie der Tollwut, und ich halte es nicht für nötig, länger dabei zu verweilen, denn ich würde bloß nunmehr allgemein bekannte Tatsachen wiederholen. Aus diesem Grunde unterlasse ich es auch, nur in Kürze die von Negri in seiner zweiten Note (2) vorgebrachten Resultate zusammenzufassen, die insbesondere die rasche Diagnose der Tollwut durch das Aufsuchen des Parasiten behandeln; überdies hoffe ich, bald mit einem neuen Beitrage von Tatsachen auf diesen Punkt zurückzukommen.

Natürlicherwise wurden diese Schlußfolgerungen sowohl durch die Neuheit der Beobachtung als durch das große praktische Interesse der Frage zum Ausgangspunkt für zahlreiche andere Untersuchungen, und schon heute nach einem verhältnismäßig kurzen Zeitraume zählt die Literatur schon eine Reihe von Arbeiten über den von Negri entdeckten Mikroorganismus. Ich will nur an die Untersuchungen von Daddi (3), Volpino (4, 5), Bertarelli und Volpino (6, 7), Bertarelli (8), Martinotti (9), Celli (10), Celli und Di Blasi (11), D'Amato (12), Pace (13), Bosc (14) erinnern.

Alle diese Studien sind eine volle und einstimmige Bestätigung der von Negri festgestellten Tatsachen.

Was ihre Interpretation betrifft, so glaubten einige Autoren, noch in einer gewissen Zurückhaltung bleiben zu müssen — einer Zurückhaltung, die vielleicht größtenteils von der geringen Zahl der angestellten Untersuchungen herrührt. Jedoch angesichts von so evidenten Befunden, die sich bei allen Beobachtern mit so genauer Beständigkeit wiederholen, werden in Bälde auch die letzten Schatten des Zweifels verschwinden und der von Negri beschriebene Parasit wird allgemein als der spezifische Erreger der Krankheit anerkannt werden.

Die bis jetzt gemachten Untersuchungen wurden besonders an Tieren angestellt, die entweder experimentell infiziert wurden oder sich auf natürliche Weise die Tollwut zugezogen hatten; es fehlt aber auch nicht an Beobachtungen an Menschen.

Negri selbst berichtete in seiner ersten Mitteilung, er habe dicke Formen von Parasiten im Innern der Purkinjeschen Zellen in einigen Stücken des Kleinhirns entdeckt, die einer an Tollwut infolge des Bisses eines Hundes an der Oberlippe verstorbenen Frau gehörten. Der Autor war damals bloß im Besitze des Kleinhirns, mithin konnte er nicht die Prüfung auf die anderen Teile des Nervensystems ausdehnen.

Später beobachtete Daddi (3) den Negrischen Parasiten im Nervensystem von 3 an der Tollwut gestorbenen Männern. Aber auch in diesen Fällen war die Prüfung unvollständig.

Auch Pace (13) teilt auf dem XIII. Kongreß für innere Medizin in Padua mit, er habe die Formen des Negrischen „Neurocytozoon“ im Nervensystem von 4 Menschen beobachtet, die der Infektion hatten erliegen müssen. Er deutet an, daß die Untersuchung ein positives Resultat sowohl im Ammonshorn als in den cerebros spinalen Ganglien ergeben hat.

Ein Fall, von dem bis jetzt die umständlichste Beschreibung vorhanden ist, ist der von Bertarelli und Volpino (6, 7) studierte. Er betrifft einen 12-jährigen Knaben, der von einem Hunde in die Nase gebissen wurde und 52 Tage nach dem Bisse starb. Bei der Nachsichtung der „Negrischen Körper“ war der Befund „positiv im Ammons-

horn, wo die Körper zahlreich auftraten, für die Purkinjeschen Zellen im Kleinhirn, die sie in mäßiger Anzahl enthielten, und für die Hirnwindungen, wo sie sich in sehr geringer Zahl vorfanden. Die Körper fehlten in jeder anderen Gegend: im verlängerten Mark, im Rückenmark, in den spinalen Ganglien und in den Ganglien des Sympathicus.“

Diese sind meines Wissens die einzigen bis jetzt in der Literatur verzeichneten Fälle von menschlicher, auf Grund der neuen Richtung studierter Tollwut.

Ich glaube daher etwas nicht ganz Ueberflüssiges zu tun, wenn ich meinerseits Nachricht gebe von einem Falle menschlicher Tollwut, den ich letzthin genauen und sorgfältigen Beobachtungen habe unterziehen können. Und ich tue es mit um so größerer Kühnheit, als mein verehrter Lehrer Prof. Golgi die Güte gehabt hat, sich für diese meine Studien zu interessieren und mich ermutigt hat, sie zu veröffentlichen.

Das Versuchsmaterial wurde mir freundlichst von Dr. Baschieri, dem Direktor des antirabischen Institutes in Faenza, zur Verfügung gestellt, dem ich meinen lebhaftesten und innigsten Dank hiermit ausspreche.

Es handelt sich um einen 10-jährigen Knaben Ca. Giuseppe, aus Marradi in der Provinz Florenz, der gegen Ende vorigen Oktobers von einem davongelaufenen und nicht mehr auffindbaren Hunde in die linke Wange gebissen wurde. Die Wunde war ziemlich tief, so daß man eine Naht machen mußte. Der Knabe spürte über 1 Monat lang gar nichts, wie es scheint äußerten sich die ersten Symptome der Krankheit am 6. Dezember: Schrecken, Angst. Am Abend des 8. Dezember wurde er ins Krankenhaus zu Faenza gebracht, wo Dr. Baschieri das klassische Bild der Rabies furiosa erkannte. Nach Verlauf von 10 Stunden starb das Kind unter einem hydrophobischen Anfall. Während eines Anfalles hatte er einen Krankenwärter ins Ohr gebissen.

Bei der 24 Stunden nach dem Tode vorgenommenen Sektion wurde keine bemerkenswerte makroskopische Veränderung wahrgenommen; Dr. Baschieri entnahm verschiedene Teile der cerebrospinalen Achse, die er zusammen mit einigen Stückchen von den Speicheldrüsen und mit einem Fragment der Narbe der gebissenen Haut mir freundlichst zusandte.

Ich machte mich sofort daran, im ganzen Material die parasitären Formen Negris aufzusuchen. Die Stücke waren teils in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert (das Ammonshorn, die Hirnrinde, das Ganglion nodosum des Vagus, Ganglien des Sympathicus, das Gassersche Ganglion, das Kleinhirn, der Bulbus und das Rückenmark), teils in Müllerscher Flüssigkeit (die Brücke und das Rückenmark), teils in Alkohol und Formalin (Glandula submaxillaris und die Narbe der gebissenen Haut).

Zum Färben gebrauchte ich verschiedene Methoden: Hämatoxylin und Eosin, Heidenhains Eisenhämatoxylin, das Foàsche Verfahren etc.; die besten Resultate habe ich jedoch mit der Mannschen Methode erzielt, obwohl sie wegen schwer bestimmbarer Umstände nicht so glänzend waren wie jene, die ich beständig von tollen, teils im Laboratorium infizierten Hunden, teils von Straßenhunden erlange, die fortwährend zu untersuchen ich Gelegenheit habe. Uebrigens konnte man das Negrische Protozoon überall, wo es in verhältnismäßig entwickelten Formen vorhanden war, in den Schnitten des Nervensystems deutlich untersuchen auch ohne Hilfe irgend einer Färbung.

Bevor ich die Resultate der Beobachtungen mitteile, will ich sagen, daß die kurzen klinischen, von Dr. Baschieri mir übersandten Notizen als eine genügende Richtschnur für meine Untersuchungen dienen.

Wie Negri an einigen Tieren bewiesen hat, besteht eine enge Beziehung zwischen der Verteilung der endocellulären Formen des Parasiten und dem klinischen Bilde der Krankheit. In den Hunden, die die klassische Rabies furiosa (Tollwut) aufwiesen (die man experimentell mittels subduraler, okulärer Injektion, in die Nasen- und Mundschleimhaut oder auch mittels Inokulation in den Medianus hervorrufen kann), treten die endocellulären Formen des Parasiten außer in anderen Regionen des Nervensystems besonders reichlich und gut entwickelt in den verschiedenen Teilen des Encephalus auf. In den paralytischen Formen hingegen fehlen im Encephalus die endocellulären Formen entweder vollständig oder sie sind sehr klein und wenig zahlreich, während man sie in den Zellen der Spinalganglien und in denen des Rückenmarks vorfindet.

Diesem Gesetze zufolge, dessen Genauigkeit ich bei manchen Versuchen am Hunde zu erkennen vermochte, war die Annahme, daß im Kinde Ca. das Protozoon namentlich im Encephalus lokalisiert sein mußte, vollkommen berechtigt.

Und die Resultate der Beobachtungen waren in der Tat, wie man sie vorhergesehen hatte.

Im Ammonshorn, der Gegend, auf die ich zuerst mein Augenmerk gerichtet hatte, sind die parasitären endocellulären Formen in beträchtlicher Zahl vorhanden (Fig. 1). Sie finden sich zahlreich in allen Punkten der grauen Schicht, zuweilen einzeln in den einzelnen Zellen, zuweilen in der Zahl von 2—3, sogar von 5—6 in demselben Element, mannigfaltig verteilt im Protoplasma des Zellenkörpers oder in ihren Fortsätzen. In einer rundlichen, aber meistens elliptischen oder ovulären Form weisen die Parasiten sehr verschiedene Durchmesser auf: Es gibt deren sehr kleine, die nicht 1 μ übersteigen und von diesen fortschreitend eine ganze Reihe von weiter entwickelten Formen, die größten jedoch übersteigen nicht das Maximum von 5—6—7 μ im Durchmesser. Obwohl der Mikroorganismus nicht die ansehnlichen Dimensionen erreicht, die er bei der experimentellen Infektion des Hundes aufweist — was vielleicht auch mit der verhältnismäßig kurzen, vom ersten Erscheinen der Symptome bis zum Tode des Objektes verflossenen Zeit zusammenhängen könnte — so läßt er immerhin stets die innere typische Struktur deutlich erkennen. Gewöhnlich tritt der klassische von Negri beschriebene Strukturtypus zum Vorschein, nämlich ein dicker zentraler oder leicht nach der Peripherie verschobener Körper, der von kleinen, rundlichen, wohl differenzierten Körperchen umgeben ist. Es fehlen indes auch nicht die anderen Dispositionen, die beschrieben worden sind.

Und deutlich ist die Struktur auch in den Formen, die man in den Zellen der Hirnrinde vorfindet, in der der Parasit mit meistens kleinen Durchmessern erscheint und weit weniger reichlich, obwohl ich in den Schnitten Zellen beobachten konnte, die sogar 2—3—4 verschieden gelagerte Parasiten enthielten (Fig. 3).

Zahlreiche endocelluläre Formen sind auch im kleinen Hirn, im Innern der Purkinjeschen Zellen vorhanden (Fig. 2). In einigen von diesen sind sogar 5—6 Parasiten eingedrungen, die zuweilen in beträchtlichem Abstände von dem Zellkörper in den protoplasmatischen Fortsätzen ihren Sitz haben. Nicht selten begegnet man Parasiten von beträchtlichem Durchmesser, die zuweilen größer sind als jene der dicksten Formen des Ammonshorns.

In der Brücke, im verlängerten Marke und im Rückenmark ist die

Untersuchung, was die typischen, sicher erkennbaren Formen betrifft, fruchtlos gewesen.

Positiv hingegen war der Befund im Gasserschen Ganglion (Fig. 5) und im Ganglion nodosum des Vagus (Fig. 4), in welchem letzterem, nebenbei erwähnt, die Läsionen Van Gehuchens und Nelis' kaum angedeutet sind. In beiden Ganglien konnte ich, wenngleich in beschränkter Anzahl für jeden Schnitt, Zellen finden, welche die typischen parasitären Formen, meistens im peripherischen Teile des Zellenkörpers liegend, enthielten.

Vereinzelt finden sich endocelluläre Parasiten auch im oberen Cervicalganglion des Sympathicus.

In den Nervenzellen der genannten Ganglien und des Sympathicus konnte ich ferner die granulären Formationen antreffen, auf die Pace hinweist und die auch schon Negri zusammen mit anderen Formationen in Tieren gefunden hat. Ich beschränke mich nur auf die Tatsache hinzuweisen; was die Interpretation betrifft, so glaube ich mich in derselben Zurückhaltung wie jene beiden Autoren verhalten zu müssen, denn bis jetzt fehlt ein jedes Datum, was uns erlauben könnte, die Natur solcher Formationen mit Genauigkeit bestimmen zu können.

Ich will zuletzt erwähnen, daß sowohl in den Speicheldrüsen als in der Narbe der gebissenen Haut das Aufsuchen parasitärer Formen, die denen in den Nervenzellen befindlichen gleich wären, vollständig negativ ausgefallen ist.

Wenn man nun die in dem von mir studierten Falle erlangten Resultate zusammenfaßt, so sieht man, daß die endocellulären Formen des Parasiten zahlreich im Ammonshorn und im Kleinhirn vorhanden waren, in mäßiger Anzahl in der Hirnrinde, und zwar gemäß den von Bertarelli und Volpino schon erlangten Resultaten.

Die endocellulären Formen des Parasiten traten überdies im Gasserschen Ganglion und im Ganglion nodosum des Vagus auf; wahrscheinlich hätte man sie auch in den cervicalen Spinalganglien gefunden, aber leider kamen diese nicht zur Untersuchung.

Jedenfalls beweisen die von mir beobachteten Tatsachen zusammen mit denen, die Pace bekannt gemacht hat, klar, daß auch beim Menschen die Ganglienzellen der Sitz des Parasiten in seinen endocellulären Stadien sein können und dies zur vollen Bestätigung dessen, was Negri festgestellt hat.

Auch in diesem Falle fehlten hingegen die endocellulären Formen in den Nervenzellen der Brücke, des Bulbus und des Rückenmarks; aus welchem Grunde, wäre gegenwärtig schwer zu sagen, wäre es auch nur als Hypothese, denn zu wenig wissen wir noch vom neuen pathogenen Erreger, namentlich was seinen Entwickelungszyklus betrifft. Ich muß indes bemerken, daß auch im Hunde die Verteilung, die ich jetzt beschrieben habe, nicht selten ist, und gleichwohl ist beim Hunde bewiesen, daß sowohl die Nervenzellen der Brücke als die des Bulbus und des Rückenmarks der Sitz jener bis jetzt bekannten Stadien des Mikroorganismus sein können.

Man wird noch die Beobachtungen am Menschen vermehren müssen und leider werden die Fälle nicht spärlich sein.

Dieses Studium, wenn es sorgfältig verfolgt wird, wird nicht bloß auch beim Menschen die Kenntnis der Verteilungsgesetze des spezifischen Krankheitserregers zu ergänzen vermögen, sondern wenn man jederzeit das enge zwischen dem klinischen Krankheitsbilde und der Verteilung der endocellulären Formen des Mikroorganismus festgestellte Verhältnis

Fig.1.



Fig.2.

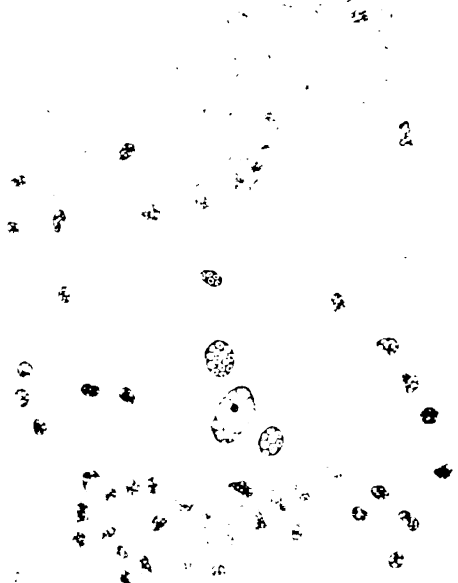


Fig.4.



Fig.5.



Fig.3.



vor Augen halten wird, wird man in den Einzelheiten die so verschiedene Symptomatologie, welche diese Krankheitsform darbietet, erhellen können, eine Frage, die bis jetzt dunkel geblieben ist, die aber dank den neuen Befunden schon zum großen Teil glänzend gelöst worden ist.

Pavia, 22. Januar 1904.

Literatur.

- 1) Negri, A., Beitrag zum Studium der Aetiologie der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIII. 1903. — Boll. della società med.-chirurg. di Pavia. 1903. No. 2.)
- 2) — —, Zur Aetiologie der Tollwut. Die Diagnose der Tollwut auf Grund der neuen Befunde. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. — Boll. della società med.-chirurg. di Pavia. 1903. No. 4.)
- 3) Daddi, G., Sull' eziologia dell' idrofobia. (Riv. critica di clinica medica. Anno IV. 1903. No. 22.)
- 4) Volpino, G., Sopra alcuni reperti morfologici nelle cellule nervose di animali affetti da rabbia sperimentale. (Giorn. della r. Accademia di medicina di Torino. 1903.)
- 5) — —, Sulla diagnosi istologica della rabbia. (Riv. d'Igiene e sanità pubblica. Anno. XIV. 1903.)
- 6) 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. (Centrabl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXV. 1903. No. 2.)
- 7) — —, Ricerche ed osservazioni sperimentali sulla rabbia. (Riv. d'Igiene e sanità pubblica. 1903.)
- 8) Bertarelli, E., Sui rapporti tra le modificazioni di virulenza del virus rabido e le modificazioni dei corpi di Negri. (Riv. d'Igiene e sanità pubblica. 1903.)
- 9) Martinotti, C., Alcune osservazioni e considerazioni su cervelli e gangli spinali di conigli morti per infezione di virus rabico. (Giorn. della r. Accademia di medicina di Torino. 1903.)
- 10) Celli, Rendiconto della Seconda Riunione della Società italiana di Patologia. (Lo Sperimentale. Anno LVII. 1903. Fasc. 6.)
- 11) Celli u. Di Blasi, Ist das Wutvirus filtrierbar? (Dtsche med. Wochenschr. 1903. 10. Dezember.)
- 12) D'Amato, L., Contribuzione all' eziologia della rabbia. (Atti del XIII congresso di medicina interna. Padova 1903.)
- 13) Pace, D., Osservazioni e ricerche sulla rabbia. (Atti del XIII congresso di medicina interna. Padova 1903.)
- 14) Bosc, Sur l'étiologie de la rage. (Compt. rend. soc. de biol. 1903. 21 novembre.)

Erklärung der Abbildungen.

Schnitte des Nervensystems des Kindes Ca., an Tollwut verstorben.

Alle Abbildungen wurden mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates, Mod. Apathy — Ob. $\frac{1}{15}$, semiapoc. homog. Imm. Koristka-Oc. comp. 4 — Tubusl. 160 mm, gezeichnet.

Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit, Färbung nach der Mannschen Methode.

Fig. 1. Aus einem Schnitte des Ammonshorns.

Fig. 2. Aus einem Schnitte des Kleinhirns.

Fig. 3. Aus einem Schnitte der Hirnrinde.

Fig. 4. Aus einem Schnitte des Ganglion nodosum des Vagus.

Fig. 5. Aus einem Schnitte des Gasserschen Ganglions.

Nachdruck verboten.

Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd.

Von **Georg Lichtenheld**, Tierarzt in Leipzig.

Mit 2 Tafeln.

Ueber Echinokokken bei Menschen liegt eine reichhaltige Literatur vor. Sie beschäftigt sich fast ausnahmslos nur mit der Lokalisation, Pathologie und Therapie des einfachen und alveolären Echinococcus. Ueber ihre Fertilität und Sterilität konnte ich keine das Thema erschöpfend behandelnde Arbeit finden. Helm (1) kam infolge Mangels an dem erforderlichen Material zu keinem wesentlichen Resultate. Eine ähnliche Arbeit ist in der Veterinärliteratur überhaupt nicht vorhanden. Von Herrn Kreistierarzt Dr. Storch auf diesen Mangel aufmerksam gemacht, entschloß ich mich zur Bearbeitung obigen Themas. Herr Professor Dr. A. Eber, Direktor des Veterinärinstitutes der Universität Leipzig, besaß die Liebenswürdigkeit, meinen Untersuchungen seine Aufmerksamkeit zu schenken. Beiden Herren sage ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank.

Ich gliedere meine Arbeit in:

- a) einen statistischen und makroskopisch beschreibenden,
- b) einen histologischen Teil.

Der erste Teil enthält eine Statistik über die Lokalisation der Echinokokken und eine Beschreibung der fertilen und sterilen Echinokokken nebst ihrem prozentualen Verhältnis bei den einzelnen Tierarten und in ihren verschiedenen Organen.

Der zweite Teil beschäftigt sich mit der histologischen Beschaffenheit der Bindegewebscysten der angeführten Echinokokken.

Statistik über das Vorkommen und die Lokalisation der Echinokokken.

Das Vorkommen der Echinokokken.

Eigene statistische Beobachtungen über das prozentuale Vorkommen von Echinokokken bei den Schlachttieren habe ich nicht gesammelt, da deren, wie aus Folgendem hervorgehen wird, genug vorhanden sind. Mit Recht wird bei den meisten derselben hervorgehoben, daß die Zahlen der wegen Echinokokken beanstandeten Organe in den Schlachthofberichten kein zutreffendes Bild von der Verbreitung der Echinokokken unter den Schlachttieren geben, da diese Berichte nur die Anzahl der wegen Echinokokken beanstandeten, nicht aber auch die, der mit Echinokokken befallenen, aber nach ihrer Entfernung wieder freigegebenen Organe enthalten.

In der Literatur finden sich vollständige Statistiken von Mejer (2), Olt (3), Metelmann (4), Sahlmann (5), Streuding (6), Prettnier (7), Längrich (8) und Gurin (9).

In der nachfolgenden Tabelle habe ich die Resultate der von den ersten 7 Autoren gemachten Beobachtungen zusammengestellt. Die Arbeit von Gurin enthält nicht persönliche Beobachtungen, sondern ist nur eine Zusammenstellung der Schlachthofberichte aus verschiedenen Teilen des russischen Reiches. Die Resultate dieser Arbeit sind dem-

nach auch für eine genaue Statistik nicht zu verwerten. Ich führe sie der Vollständigkeit halber an und weil man aus ihr ersieht, wie ungeheuer schwankend die Zahl der Echinokokkenfälle in den verschiedenen Landesteilen ist.

In den in Betracht kommenden 68 Gouvernements war der niedrigste Prozentsatz der mit Echinokokken behafteten

Rinder	0,1	und der höchste	82,1
Schweine	0,01	" " "	70,0
Schafe	0,01	" " "	60,0
Pferde	0,005	" " "	80,0
Kälber	0,01	" " "	19,0

	Mejer		Olt		Metelmann	Sahlmann	Streuding		Prettner		Längrich		
	von	Proz. behaftet	von	Proz. behaftet			von	Proz. behaftet	von	Proz. behaftet	Proz. 95	Proz. 95/96	Proz. 96/97
Rinder	—	—	1425	7,1	25 Proz.	ca. 50 Proz.	1113	24,6	24332	5650 = 23,2 Proz.	26,2	26,7	26,2
Schafe	4515	13,09	14717	25,8	15 "	" 50 "	1551	35,4	21610	1200 = 5,5 Proz.	37,0	36,8	35,2
Schweine	5166	3,79	16829	7,3	5 "	" 50 "	2949	21,4	—	—	5,4	5,0	5,3
Ziegen	843	21,47	—	—	—	—	—	—	—	—	0	1	2
Pferde	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1

Die Lokalisation der Echinokokken.

Die größeren Statistiken über die Lokalisation der Echinokokken beim Menschen und bei Tieren weisen nicht geringe Verschiedenheiten auf. Aus der ärztlichen Literatur führe ich die von Davaine, Böcker, Neisser und Bahr an. Die ersten 3 der „Speziellen Pathologie von Nothnagel Bd. VI entnommen, die 4. einem Referat in der Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene Bd. IV, S. 134. Ich führe im folgenden nur die Zahlen bez. der Lunge, Leber, Milz und Nieren an, da ich nur diese zu einem Vergleiche nötig habe.

	Davaine		Böcker		Neisser		Bahr	
	376 Fälle		40 Fälle		900 Fälle		133 Fälle:	
Lunge:	4mal =	1,07 Proz.	5mal =	12,5 Proz.	7,4 Proz.	11,2 Proz.		
Leber:	166mal =	44,2 "	27mal =	67,5 "	50,0 "	66,9 "		
Milz:	0 =	0 "	4mal =	10,0 "	3,0 "	2,3 "		
Nieren:	31mal =	8,3 "	2mal =	5,0 "	8,9 "	3,0 "		

(Die prozentualen Verhältnisse bei Davaine und Böcker sind von mir berechnet worden.)

Ostertag (10) gibt über die Lokalisation der Echinokokken bei unseren Haustieren an, daß der Sitz derselben in Lunge, Leber und Milz sei, seltener in dem Herzen, der Niere und dem Bauchfell; bemerkenswert sei, daß bei Rindern und Schafen die Lungen häufiger durchsetzt seien als die Lebern. Außerdem führt er noch die Beobachtungen von Längrich an, der gefunden hat, daß bei $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{5}$ der mit Echinokokken behafteten Rinder die Lungen und die Lebern gleichzeitig, bei $\frac{1}{6}$ bez. $\frac{1}{8}$ jedes der Organe allein, bei Schafen stets Lunge und Leber, bei Schweinen und Ziegen vorwiegend Leber und beim Pferd Lunge und Leber befallend sind.

Schneidemühl (11) macht dieselben Angaben über die Lokalisation der Echinokokken wie Ostertag.

Außerdem liegen noch Beobachtungen vor über Lokalisation bei Rindern von Prettnner (7) und bei Schweinen von Mejer (2). Ersterer fand bei 24332 Rindern 1800mal die Lunge, 3400mal die Leber und 450mal Lunge und Leber befallen. Letzterer konstatierte, daß bei 5166 Landschweinen 0,26 Proz. der Lungen und 3,81 Proz. der Lebern und bei 843 ungarischen Schweinen 14,79 Proz. der Lungen und 12,03 der Lebern von Echinokokken befallen waren.

Ich werde nun zunächst die von mir für die Lokalisation gefundenen Zahlen angeben und dann die angegebenen Befunde besprechen.

Es wurden insgesamt 100 Rinder, die mit Echinokokken behaftet waren, von mir genauer untersucht. Diese 100 Fälle verteilen sich auf 9 Bullen, 17 Ochsen und 74 Kühe. Die ungleiche Verteilung wird verursacht durch die verschiedenen große Zahl der Schlachtungen von Bullen, Ochsen und Kühen und durch das verschiedenen hohe Alter der Schlachttiere. Bullen werden hier im allgemeinen unter einem Alter von 4 Jahren, Ochsen und Kühe in einem solchen von über 7 Jahren geschlachtet. Infolge der längeren Lebenszeit haben Ochsen und Kühe natürlich auch bedeutend mehr Gelegenheit zur Infektion gehabt als Bullen.

Die Echinokokken hatten ihren Sitz in folgenden Organen:

- a) bei 9 Bullen 9mal in der Lunge;
- b) bei 17 Ochsen 11mal in der Lunge,
6mal in der Lunge und Leber;
- c) bei 74 Kühen 43mal in der Lunge,
5mal in der Leber,
22mal in der Lunge und Leber,
1mal in der Lunge und im Herzen,
2mal in der Lunge, Leber und Milz,
1mal in der Lunge, Leber, Milz und einer Niere.

Hieraus ergibt sich, daß befallen waren:

- a) bei Bullen 9 Lungen = 100 Proz.
- b) bei Ochsen 17 Lungen = 73,5 Proz.
6 Lebern = 26,5 "
- c) bei Kühen 69 Lungen = 65,7 "
31 Lebern = 29,5 "
3 Milzen = 2,9 "
1 Herz = 0,95 "
1 Niere = 0,95 "

Um ein Gesamtbild über die Lokalisation der Echinokokken bei den Rindern zu geben, zählt man die Anzahl der gleichen Organe bei Bullen, Ochsen und Kühen zusammen. Hierdurch erhält man folgende Zahlen:

95 Lungen	=	69,3	Proz.
37 Lebern	=	27,0	"
3 Milzen	=	2,2	"
1 Herz	=	0,75	"
1 Niere	=	0,75	"

Meine Beobachtungen stimmen also mit denen Ostertags insofern überein, als ich die Lunge bedeutend öfter als die Leber mit Echinokokken besetzt fand. Prettnners Angaben stehen diesem entgegen.

Von den Schweinen untersuchte ich 85 mit Echinokokken behaftete. Das Alter der Schlachtschweine beträgt bei 85 Proz. nicht 2 Jahre und zwar meist $\frac{3}{4}$ Jahre. Die männlichen waren alle kastriert. Unter den 58 weiblichen Tieren befand sich eine relativ höhere Zahl von älteren Tieren als bei den 27 männlichen.

Es waren befallen bei den 27 männlichen Tieren:

22mal die Leber,
3mal die Lunge,
1mal die Lunge und das Herz,
1mal die Lunge, Leber, Milz und Niere.

Es waren also mit Echinokokken besetzt:

23 Lebern = 74,2 Proz.
5 Lungen = 16,2 "
1 Milz = 3,2 "
1 Herz = 3,2 "
1 Niere = 3,2 "

Bei den 58 weiblichen Schweinen erstreckte sich die Krankheit

41mal auf die Leber,
3mal auf die Lunge,
12mal auf die Leber und Lunge,
1mal auf die Lunge, Leber, Milz, das Herz und das
subperitoneale Fettgewebe,
1mal auf eine Niere.

Es waren also mit Echinokokken besetzt:

54 Lebern = 72 Proz.
16 Lungen = 21,4 Proz.
2 Nieren = 2,7 "
1 Herz = 1,3 "
1 Milz = 1,3 "
1 subperitoneales
Fettgewebe = 1,3 "

Bei Schweinen sind demnach die Lebern bedeutend häufiger als die Lungen befallen.

Ein bedeutender Unterschied in der Lokalisation der Echinokokken bei männlichen und weiblichen Tieren ist aus den vorangehenden Tabellen nicht zu ersehen. Trennen wir jedoch die Tiere anstatt in männliche und weibliche, in solche von über und unter 2 Jahren, so ergeben sich bei dieser Einteilung bedeutende Verschiedenheiten in der Lokalisation der Echinokokken in den einzelnen Organen.

Bei 27 männlichen Tieren war das Alter 1mal über und 26mal unter 2 Jahren. Bei 58 weiblichen war das Alter 15mal über und 43mal unter 2 Jahren. Es waren also insgesamt 16 Tiere älter und 69 jünger als 2 Jahre.

Die Lokalisation der ersteren ergibt:

3mal die Lunge,
5mal die Leber,
7mal die Lunge und Leber,
1mal die Lunge, Leber, Milz, das Herz, eine Niere und
das subperitoneale Fettgewebe;

bei den letzteren:

34mal die Leber
5mal die Lunge und Leber,
1mal die Lunge und das Herz,

1mal eine Niere,

1mal die Lunge, Leber, Milz und eine Niere.

Es waren folglich befallen:

a) bei Tieren über 2 Jahren:

11 Lungen	=	39,3	Proz.
13 Lebern	=	46,4	"
1 Niere	=	3,58	"
1 Herz	=	3,58	"
1 Milz	=	3,58	"
1 subperitoneales Fettgewebe	=	3,58	"

b) bei Tieren unter 2 Jahren:

10 Lungen	=	12,8	Proz.
64 Lebern	=	82,0	"
2 Nieren	=	2,6	"
1 Milz	=	1,3	"
1 Herz	=	1,3	"

Wir ersehen hieraus, daß bei älteren Tieren der Prozentsatz der befallenen Lebern ein bedeutend geringerer, der befallenen übrigen Organe ein dementsprechend höherer ist als bei jüngeren Tieren.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten

Oxyuris vermicularis im Beckenperitoneum eingekapselt.

[Aus dem patholog. Institut der Universität Heidelberg.]

Von Dr. Paul Schneider.

Oxyuris vermicularis wahrscheinlich der häufigste der menschlichen Entozoen, hat nach den Untersuchungen von Zenker und Heller, nachdem sich im Dünndarm seine Entwicklung und Befruchtung vollzogen hat, seinen Hauptsitz im Coecum und Processus vermiformis.

In seltenen Ausnahmefällen scheinen sich die Oxyuren auch im Magen und vielleicht Oesophagus anzusiedeln zu können oder auch hier ihre Entwicklung durchzumachen (Cobb). Wenigstens könnte man so jene Beobachtungen erklären, wo reife Oxyuren-Weibchen in großer Anzahl aus Mund oder Nase zum Vorschein kamen (Fälle von Pomper, Hartmann).

In der Norm steigen die befruchteten Weibchen allmählich im Dickdarm herab, überall ihre Eier ablegend und kriechen dabei auch aus dem Anus hervor, wobei sie zur Qual ihrer Besitzer werden. Genügende Feuchtigkeit der Haut vorausgesetzt, können sie hier gelegentlich weite Strecken zurücklegen, man hat sie sogar in der Achselhöhle gefunden. Daß sie in seltenen Fällen tief in den weiblichen Genitalkanal hinein gelangen, möchte ich mit folgendem Befunde demonstrieren.

Aus der Krankengeschichte seien einige Angaben wiedergegeben, die mir für die Beurteilung von Interesse zu sein scheinen:

36jähr. Landwirtsfrau. Bis zum 20. Jahre gesund, normaler Partus. Mit 21 Jahren vaginale Operation eines rechtsseitigen Adnextumors (Entleerung eines Eitersacks). Später

Periode wieder regelmäßig, darnach oft gelben Ausfluß. Im letzten halben Jahre wurde die Periode ganz unregelmäßig. Reichlicher Ausfluß, Schmerzen im Leib, öfters Fieber. Bei Untersuchung l. kleinapfelgroßer, prallelastischer Tumor, r. flache hühnereigroße Resistenz, die einer Narbe im rechten Scheidengewölbe aufliegt. In der Narbe Fistel, in die die Sonde einige Centimeter weit eindringt. Klin. Diag. Pyosalpinx bilateralis. Metritis. Endometritis. Die Operation (abdominale Totalexstirpation 11. XI.) bestätigte die Diagnose. Tuberkelähnliche Knötchen wurden weder auf dem Peritoneum parietale noch auf den Adnexen bei der Operation bemerkt. Bei der Loslösung des linksseitigen Tumors von einer Adhäsion riß der Dünndarm an einer Stelle ein, die sofort übernäht wurde. Einige Tage darauf traten Erscheinungen von Peritonitis auf, der die Patientin erlag.

Aus dem Sektionsbefund (16. XI.) entnehme ich:

Netz verdickt, an der Beckenwand verwachsen. Darmschlingen meteoristisch, mit Fibrin und Eiter belegt, vielfach verklebt. In der Bauchhöhle $\frac{1}{2}$ l dicken Eiters frei, außerdem Eiteransammlungen zwischen den verklebten Darmschlingen. Vagina nach oben durch Nähte abgeschlossen. Durch die Verklebungen ist eine Dünndarmschlinge im kleinen Becken in der Lage einer Achsendrehung um 180° fixiert und dadurch eine relative Stenose hervorgerufen. Am abführenden kontrahierten Schenkel die Uebernährungsstelle, deren Naht sufficient erscheint. Dickdarm sonst intakt, kontrahiert.

Im Douglas am Stumpf des l. Ligam. ovariopeloicum eine harte knötchenförmige Verdickung des Peritoneums von 2 cm Durchmesser, auf deren genauere histologische Beschreibung ich unten zurückkomme.

Im übrigen Sektionsbefund nichts wesentliches. Eine genauere Untersuchung des Darminhaltes unterblieb aus äußeren Gründen. Im Rectum nichts Abnormes.

Die Anatom. Diagn. lautete: Totalexirpation des Uterus und der Adnexe. Diffuse eiterige Peritonitis. Adhäsion einer Dünndarmschlinge am Operationsfeld im kleinen Becken mit sekundärer, relativer Stenose.

Icterus, Fettinfiltration, Stauung der Leber. Abnorm gebildeter l. Leberlappen. Gallenblasensteine. Trübung, Fettinfiltration der Niere. Septischer Milztumor. Allgemeiner Icterus mäßigen Grades. Geringe Cystitis. Anthrakotische Induration und Pleuraschwielen an beiden Lungenspitzen. Hypostase und Oedem der Unterlappen.

Das oben erwähnte peritoneale Knötchen, an dem makroskopisch keine bestimmte Diagnose zu stellen war, wurde zur histologischen Untersuchung in Formol gehärtet, in eine Reihe von Gefrierschnitten (ca. 20 μ Dicke) zerlegt, mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Gieson gefärbt. Außerdem wurde die Weigertsche Elastinfärbung, sowie die Gramsche Methode zu Rate gezogen. Dabei ergab sich folgender interessanter Befund:

Im peritonealen Gewebe findet sich ein länglicher, über 3 mm großer Spaltraum; darin liegt ein leicht gekrümmtes, 3 mm langes, an seiner größten Breite 0,4 mm messendes Gebilde. An dem einen breiteren Pol, den ich als oberen bezeichnen will, ist es von einer Kappe polynukleärer Leukocyten umhüllt, deren einzelne Elemente größtenteils in Detritus zerfallen sind und sich mit Hämatoxylin intensiv färben, also wahrscheinlich verkalkt sind. Im übrigen ist das Gebilde ringsum von einer Bindegewebsmasse umgeben, die eine Dicke von 0,3—1 mm besitzt. Diese Kapsel ist aus sehr derbfaserigem Bindegewebe mit nur wenig schmalen spindeligen Kernen zusammengesetzt. Seine innerste Zone ist von mehr hyaliner Beschaffenheit und enthält einzelne spärliche Riesenzellen. Nach der Peritonealseite zu schließt sich an die Kapsel

eine dünne Schicht lockeren Bindegewebes, reich an elastischen Fäserchen, die nach der Kapsel zu sehr spärlich werden, und in ihrer inneren Schicht vollständig fehlen. Die Lücken und Spalträume des lockeren Bindegewebes sind ganz ausgefüllt mit feinkörnigen Bakterienmassen, die sich nach der Gram'schen Methode darstellen lassen. Diese finden sich ebenso auf der peritonealen Oberfläche, wo einzelne große, gequollene Elemente des Peritonealepithels noch aufliegen.

Nach innen von der Kapsel folgt das subperitoneale Fettgewebe, in dem sich die Zeichen lebhafter Entzündung nachweisen lassen (Hyperämie, Hämorrhagieen, seröse Schwellung, zellige Infiltrate etc.).

Betrachtet man nun das längliche Gebilde genauer, so sieht man schon bei schwachen Vergrößerungen, daß es aus einer Unmenge ovalärer Elemente, die dicht aufeinander gepreßt sind, zusammengesetzt ist. Bei stärkeren Vergrößerungen erkennt man, daß diese längs, schief und quergetroffen eng nebeneinanderliegen. Sie sind durchschnittlich 49μ lang, 22μ dick, von länglich ovalärer Gestalt. An den meisten ist deutlich nachzuweisen, daß die eine Breitseite stärker gewölbt, daß der eine Pol spitzer ist wie der andere. Sie besitzen eine deutliche, doppelt kontrurierte Membran. Der Inhalt, der diese Kapsel nicht vollkommen ausfüllt, besteht aus einer feinkörnigen, nach außen fein höckerigen Masse, die zahlreiche kleine, mit Hämatoxylin sich dunkel färbende Kerne enthält. An einzelnen Elementen erkennt man, daß die Inhaltsmasse ein längliches, geknicktes Gebilde darstellt mit breitem Vorderteil und umgeschlagenem, spitzen Schwanzteil.

In anderen Eiern stellt sich die Inhaltsmasse ganz homogen, stark lichtbrechend dar, zum Teil mit Hämatoxylin intensiv gefärbt, offenbar verkalkt.

Aus diesem Befund geht hervor, daß es sich hier um Parasiteneier handelt und zwar nach der charakteristischen Gestalt, der Größe und dem Bau um Eier von *Oxyuris vermicularis*. Und bei genauerem Zusehen erkennt man auch noch Hüllen, die dem die Eier enthaltenden Wurm zugehören. Von der Uteruswandung ist nichts mehr zu finden. Dagegen umgibt der Hautmuskelschlauch ringsum die Eimassen und an einzelnen Stellen erkennt man deutlich den fibrillären Aufbau desselben. Namentlich gegen den unteren Pol erscheint er verdünnt, stellenweise ganz aufgelöst von den andrängenden Eiterzellen, so daß einzelne polynukleäre Elemente hier zwischen die Eier zu liegen kommen.

Nach außen vom Hautmuskelschlauch sieht man namentlich am oberen Pol noch die Cuticula, die stellenweise noch eine feine Streifung aufweist und namentlich an den Gieson-Präparaten durch die hellrosa Farbe deutlich vom gelbbraunlichen Muskelschlauch absticht. Weitere Einzelheiten der Organisation des Wurmes sind nicht sicher zu erkennen. An einem Präparat findet sich eine Einsenkung der Cuticula, vielleicht der Anfang der Vulva. Vom Darmapparat ist nichts nachzuweisen.

Es handelt sich hier also zweifellos um ein reifes *Oxyuris*-Weibchen, das in den Präparaten in schiefer Richtung durchschnitten ist. Dasselbe liegt in einer Bindegewebskapsel im Peritonealgewebe. Die akute Entzündung des letzteren ist offenbar accidentell und auf Rechnung der akuten Peritonitis zu setzen. Offenbar ist der Wurm in die Peritonealhöhle gelangt und hier abgestorben. Vom Peritoneum sind Bindegewebsmassen über ihn hinweggewachsen und haben ihn eingekapselt, während das Peritonealepithel darüber hinweggewachsen ist

Wie ist nun der Wurm in die Bauchhöhle gelangt? Zunächst läßt sich ausschließen, daß dies bei der Operation, etwa bei der operativen Darmverletzung geschehen sein kann. Die ganze Beschaffenheit des Wurmes, die Dicke und namentlich die fibrinöse Beschaffenheit der Kapsel zeugen dafür, daß es sich hier um einen Prozeß handelt, der mindestens 1—2 Monate, wahrscheinlich aber viele Monate, vielleicht auch mehrere Jahre spielt, während die Operation nur 5 Tage vor der Sektion stattfand. Weiter ist darauf hinzuweisen, daß der Darm, abgesehen von den Veränderungen, die durch die akute Peritonitis hervorgerufen waren, äußerlich ein völlig normales Verhalten darbot, es bestanden also keine älteren Veränderungen, wie Geschwüre mit Fistelbildungen, Narben und dergleichen, auf welchem Wege der Wurm etwa seine Wanderung zurückgelegt haben könnte. Es bleiben so nur zwei Möglichkeiten zu diskutieren: Durchgang durch die intakte Darmwand oder Wanderung in den weiblichen Genitalkanal bis zur Peritonealhöhle.

Die erstere Möglichkeit war früher namentlich für die Ascariden im Hinblick auf den Befund in Nabelabscessen, in der freien Bauchhöhle etc. vielfach angenommen, indes erkennt man jetzt allgemein an, daß diese Würmer nur vorhandene Fistelgänge benutzen, oder daß diese Perforationen postmortaler Natur sind, daß also *Ascaris lumbricoides* nicht im stande ist, die normale Darmwand zu durchbrechen.

Neuerdings sucht nun Vuillemin an der Hand einer Beobachtung Frölichs diese Möglichkeit für *Oxyuris* wieder zu statuieren. Dieser fand in einem retrorektalen, nach der Rima ani sich vorwölbenden Abseß zahlreiche Oxyuren, soweit untersucht, Weibchen. Weder mit Haut noch mit Rektallumen ließ sich eine Kommunikation des Abscesses nachweisen. Dagegen fanden sich in dem Rectum, das zahlreiche Oxyuren enthielt, punktförmige Hämorrhagieen und eine flache, kleine Ulceration an Vorder- und Hinterrand. Vuillemin nimmt nun an, daß letztere von den Oxyuren hervorgerufen seien, daß solche sich in das Gewebe eingebohrt und den Absceß verursacht hätten, die Fisteln sich aber auf Grund der Elasticität des Gewebes und der entzündlichen Reaktion wieder geschlossen hätten. Mir erscheint es aber viel wahrscheinlicher, daß die Oxyuren sekundär erst in den Absceß eingewandert sind, vielleicht durch anale Fistelgänge, aus denen sich der Absceß wohl entwickelt hat. Jedenfalls fehlt der Nachweis, daß der Absceß nur durch *Oxyuris*, nicht von den gewöhnlichen Eitererregern verursacht ist, und man kann ihn sicher nicht als Beweis dafür ansehen, daß die Oxyuren die normale Darmwand zu durchbohren im stande sind, wofür auch sonst keine Beobachtungen vorliegen.

So bleibt nur die andere Annahme übrig, daß der Wurm durch den ganzen Genitalkanal durch das Tubenostium seinen Weg in die Bauchhöhle genommen hat. Diese Annahme wird um so wahrscheinlicher, wenn wir sehen, wie die zunehmende Kasuistik die einzelnen Etappen einer solchen Wanderung geradezu fixiert hat.

Daß Oxyuren vom Anus gelegentlich in die Vulva und von da in die Vagina gelangen, ist eine alte Erfahrung. Von neueren Beobachtern sei nur Heller erwähnt, der weibliche Oxyuren bei einer Sektion im Scheidengewölbe nachwies und Spitzer, der bei einem 12-jähr. Mädchen ein ganzes Bündel Oxyuren bei einer Spülung aus der Vagina entleerte.

In seltenen Fällen gelangen Würmer sogar in das Cavum uteri, so daß z. B. Vix in dem mittels des Speculum entnommenen Uterinschleim

Oxyuren-Eier nachwies und Simons neuerdings Oxyuren in dem Cervikalkanal einer 42jähr. Frau nachwies und entfernte. Weiter hat Marro einen interessanten Fall mitgeteilt, in dem Eier von *Oxyuris* in einer Eileitercyste nachgewiesen wurden, die nur auf ein dorthin eingewandertes Oxyuren-Weibchen zu beziehen waren. Schließlich existiert ein dem unseren ganz analoger Fall, den Kolb mitteilte: Bei einer 42-jähr. Frau saßen auf dem Douglasperitoneum gegen 10 reiskörperchenartige, teils gestielte, teils flache Knötchen, bei sonst normalem Peritoneum, Darm- und Genitalapparat. Diese Gebilde waren durch darin eingekapselte Oxyuren-Weibchen hervorgerufen. Auch Kolb ist dabei zu dem Schluß gekommen, daß die Einwanderung nur durch den Genitalkanal erfolgt sein kann.

Was unseren Fall anlangt, so möchte ich noch auf den Befund an der linken Seite hinweisen, während rechts schon seit Jahren eine Entzündung spielte, die später auch auf die linke Seite überging. Möglicherweise geschah aber die Wanderung schon vor vielen Jahren, ehe die wahrscheinlich gonorrhöische Entzündung des Genitalapparats einsetzte.

Die pathologische Bedeutung dieser Oxyuren-Wanderung dürfte nicht allzu hoch einzuschätzen sein, in der Regel wird sie wohl mit der Einkapselung der Parasiten, leichten lokalen Entzündungsprozessen erschöpft sein. Gelegentlich mögen die Würmer allerdings als Ueberträger von Infektionskeimen eine größere Rolle spielen. Immerhin ist diese Wanderung für die Biologie dieser Würmer von hohem Interesse, was bei der großen Seltenheit dieses Ereignisses diese Mitteilung rechtfertigt.

Literatur.

- Cobb, zit. nach Peiper, *Ergeb. der allg. Pathol. etc.* Bd. III. 1896.
 Hartmann, Ueber das Vorkommen von Oxyuren in der Nase. (*Berl. klin. Woch.* 1889.)
 Heller, *Ziemssens Handbuch*, Bd. VII. Ueber Oxyurie vermicularis. (*D. Arch. für klin. Med.* Bd. LXXVII. 1903.)
 Kolb, Ueber den Befund von auf dem Peritoneum des Cavum Douglassi angewachsenen Oxyuriden. (*Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXXI. 1902.) Vergl. dazu Chiari, *Demonst.* (*Prager med. Woch.* 1902.)
 Leuckart, *Die menschlichen Parasiten.* 1863.
 Marro, Ueber eine in dem Eileiter sich befindende Cyste etc. (*Ref. Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXXI. 1902.)
 Peiper, *Die tierischen Parasiten des Menschen.* (*Ergebn. der allg. Pathol. u. path. Anat.* Bd. III. 1896.)
 Pomper, *Beitrag zur Lehre von Oxyuris vermicularis.* Diss. Berlin 1878. Vergl. dazu Seligsohn, *Berl. klin. Woch.* 1878.
 Simons, Entozoen in der Gebärmutter. (*Centralbl. f. Gynäk.* Bd. XXIII. 1899.)
 Spitzer, *Oxyuris vermic.* in forensischer Beziehung. (*Wien. med. Woch.* 1892.)
 Vuillemin, Sur la pénétration des femelles d'*Oxyuris vermicularis* etc. (*Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXXII. 1902.)
 Zenker, *Tagebl. der 42. Vers. Deutsch. Naturf. u. Aerzte.* Dresden 1868.

Nachdruck verboten.

Zur Jodreaktion einiger Leptothrixarten der Mundhöhle, der Speiseröhre und des Magens.

Von Dr. med. E. Fricker, Bern.

Die mikroskopische Untersuchung namentlich des salzsäurefreien milchsäurehaltigen, stagnierenden Mageninhaltes, wie er bei Carcinoma ventriculi vorkommt, ergibt als auffallenden Befund lange, fadenförmige, häufig winklig aneinandergelagerte, unbewegliche Bacillen, die oft in ungeheurer Zahl das Gesichtsfeld einnehmen und die von einzelnen Autoren als „Fadenbacillen“, von anderen als „Milchsäurebacillen“ bezeichnet werden. Es sei mir gestattet, in Ermangelung einer zutreffenden Bezeichnung, den Namen „Fadenbacillen“ für diese, zu den Leptothrix-Arten zu rechnenden Mikroorganismen in vorliegender Arbeit beizubehalten. Die genannten Bacillen, die eine Länge von 6—8 μ und eine Dicke von ca. 1 μ aufweisen, fakultativ anaërob und ohne Sporenbildung wachsen, sind von einer Reihe von Autoren genauer studiert worden und namentlich ihre Beziehung zur Milchsäurebildung aus verschiedenen Zuckerarten durch Kulturverfahren in einer Weise festgestellt worden, daß man sie, wenn auch nicht als ausschließliche, so doch als hauptsächlichste Erreger der Milchsäurebildung im anaciden, stagnierenden Mageninhalt betrachten muß. Bei kurzdauernder Färbung mit wässriger Methylenblau- oder Fuchsinlösung treten in einzelnen hellblau resp. hellrot gefärbte Stäbchen, Körner von ungleicher Größe auf, welche den Farbstoff intensiver aufnehmen und sich dadurch von dem übrigen Bakterienleib scharf abheben und welche Strauß als plasmogene Körner auffaßt. Unter gewissen Umständen sieht man nun genau dieselbe Körnerbildung auch, wenn man dem frischen mikroskopischen Präparat Lugolsche Lösung zusetzt. Dabei färben sich nun diese Körner violett bis tiefblau, währenddem der übrige Bakterienleib keine Jodreaktion annimmt. Miller benutzt diese Jodreaktion zur Differenzierung verschiedener Leptothrixformen der Mundhöhle, Rud. Schmidt empfiehlt sie, um eine Verwechslung des *Bacillus maximus buccalis*, der sich mit Jod in toto blau färbt, mit den oben genannten Fadenbacillen, die nur Körnerfärbung geben, auszuschließen. Wir werden weiter unten sehen, inwiefern die Annahme berechtigt ist.

Bevor ich nun näher auf die Bedingungen eintrete, unter welchen die Fadenbacillen Jodreaktion geben, möchte ich aus Zweckmäßigkeitsgründen diese körnige, auf Jod reagierende Substanz, ähnlich wie man es bei *Clostridium butyricum* getan hat, als Granulose, ihre Reaktion auf Jod, im Gegensatz zu einer Blaufärbung des Bakterienleibes in toto, Granulosereaktion bezeichnen. Biologisch interessant und für das Auftreten der Granulosereaktion von Bedeutung ist die Angabe A. Schmidts, daß *Clostridium butyricum* in Stühlen häufig in der Nähe oder auf Pflanzenresten selbst gefunden wird, währenddem es in Stühlen ohne Cellulosereste fehlt. Auch bei *Clostridium butyricum* handelt es sich, ähnlich wie bei den Fadenbacillen, nicht um eine Blaufärbung des Bakterienleibes in toto, sondern um einen körnigen Inhalt, der auf Jod reagiert, ein sicher der Stärke nahestehendes Kohlehydrat, das der Organismus assimiliert und wahrscheinlich zum Aufbau verwendet.

Ich habe Gelegenheit gehabt, bei einer größeren Zahl von carcino-

matösen Mageninhalt (mit Stagnation, Salzsäuremangel — Anwesenheit beträchtlicher Mengen Milchsäure), in welchen sich massenhaft Fadenbacillen befanden, die Granulosereaktion zu prüfen. Dieselbe war bei allen Untersuchungen positiv ausgefallen. Interessant war dabei der Befund, daß diejenigen Stäbchen, die sich auf Amylumkörnern befanden und in sich mit Jod blau oder rotviolett färbendem Substrat (Amidulin, Erythroextrin) eingebettet lagen, eine intensivere Granulosereaktion zeigten, als die frei im Magensaft herumschwimmenden Bacillen. Ganz im Gegensatz zu diesen Untersuchungen fiel die Granulosereaktion mit wenigen Ausnahmen stets negativ aus bei den zwar vereinzelt in normalen oder leicht hyperaciden Mageninhalt anwesenden Fadenbacillen. Ich glaube eine Erklärung dieses Verhaltens darin erblicken zu dürfen, daß diese vereinzelt Exemplare bereits durch geringe Mengen freier Salzsäure in ihrer Entwicklungs- und Assimilationsfähigkeit rasch gehemmt, ja vielleicht in kurzem abgetötet werden. Dies erklärt auch die Tatsache, daß größere Mengen Milchsäure und freie Salzsäure im Magen nicht gemeinsam vorkommen können, da die Milchsäure produzierenden Fadenbacillen im normalaciden Magensaft zu Grunde gehen.

Daß die Granulosereaktion, selbst der vegetations- und assimilationsfähigen Fadenbacillen jedoch keine konstante Eigenschaft derselben ist, sondern lediglich vom Nährboden abhängt, zeigt die mikroskopische Untersuchung eines stark milchsäurehaltigen Divertikelinhaltes, den ich vor einiger Zeit zu explorieren Gelegenheit hatte. Als auffallenden Befund glaube ich zum ersten Male (soweit ich wenigstens aus der Literatur ersehe) in einem Divertikelinhalt die Anwesenheit ganz ungeheurer Mengen von Fadenbacillen konstatiert zu haben. Die Granulosereaktion fiel negativ aus. Die weitere Untersuchung des mikroskopischen Präparates ergab das Fehlen jeder sich mit Jod blau färbenden Substanz, dagegen die Anwesenheit zahlreicher Fetttropfen (die betr. Patientin hatte sich seit mehreren Tagen ausschließlich mit Milch ernährt). Die Besitzerin des Divertikels erhielt nun eine amyllumreiche Kost und als ich nach 6 Tagen den Divertikelinhalt wieder untersuchte, gaben die Fadenbacillen eine ganz intensive Granulosereaktion.

Miller unterscheidet unter den *Leptothrix*-Arten der Mundhöhle solche, welche sich mit Jod blau färben (*Leptothrix gigantea* Miller, *Bacillus maximus buccalis*, *Leptothrix innominata*) und solche, die keine Jodreaktion aufweisen (*Leptothrix maxima buccalis*). Ob Miller unter dieser Blaufärbung eine Färbung des Bakterienleibes in toto versteht oder nur Körnerfärbung, vermag ich aus den entsprechenden Angaben nicht zu ersehen, es fällt mir aber mit **Lehmann** und **Neumann** auf, daß Miller *Bacillus maximus buccalis* und *Leptothrix maxima buccalis*, welche genau dieselben morphologischen Eigenschaften aufweisen, unterscheidet, nur weil das erstere sich mit Jod blau färbt, das letztere nicht. Wahrscheinlich handelt es sich um ein und dieselbe Species, die, je nachdem sie sich in amyllumhaltigen Medium befindet oder nicht, bald Jodreaktion gibt, bald dieselbe vermissen läßt. Jedenfalls geht es, wie meine Untersuchungen zeigten, nicht an, lediglich auf Grund der Jodreaktion, bei morphologischer Identität, eine Differenzierung verschiedener Spezies vorzunehmen. Unter einer größeren Zahl von mikroskopischen Untersuchungen des Mundhöhlenschleimes habe ich im wesentlichen 3 Formen von *Leptothrix* unterscheiden können: Die eine Species, mit deutlichen Septen, ohne Jodreaktion, entsprach in Form und Größe der **Leptothrix**

thrix gigantea (Miller); eine zweite Spezies, mit deutlicher Granulosereaktion, wies morphologisch dieselben Merkmale auf wie *Leptothrix maxima buccalis* (Miller); eine dritte Species in Form und Größe genau den Fadenbacillen des Magens entsprechend, gab in der Mehrzahl der Fälle Granulosereaktion.

Es ist wohl keine Frage, daß die sogen. Fadenbacillen ein konstanter Befund des Mundhöhlen- und speziell des Zahnschleimes sind und wahrscheinlich sowohl hier wie im Magen und in Oesophagusdivertikeln als die hauptsächlichsten Milchsäurebildner betrachtet werden müssen. Im Magen entwickelt sich dieser Organismus am besten und unter beträchtlicher Milchsäureproduktion bei vorhandenem Salzsäuremangel und Stagnation. Diese beiden Bedingungen sind im Oesophagusdivertikel konstant vorhanden. In der Mundhöhle fehlt unter normalen Verhältnissen die Stagnation; dies ist auch der Grund, warum man hier die Fadenbacillen nur in vereinzelt Exemplaren findet, da sie ja immer wieder nach außen oder in den Magen befördert werden, wo sie im normalacidigen Magensaft rasch zu Grunde gehen.

Daß die Fadenbacillen aus verschiedenen Zuckerarten Milchsäure zu bilden vermögen, ist zur Genüge auf dem Kulturwege festgestellt worden. Wahrscheinlich vermag dieser Organismus auch die lösliche Stärke, die er aufgenommen, zu saccharifizieren und in Milchsäure zu überführen.

Aus obigen Untersuchungen geht hervor:

- 1) Daß die sogen. Fadenbacillen nicht nur im Magen, sondern auch in Oesophagusdivertikeln und in der Mundhöhle die hauptsächlichsten Milchsäurebildner sind.
- 2) Daß die Granulosereaktion der Fadenbacillen nur dann eintritt, wenn sich dieselben in einem amyllumhaltigen Medium entwickeln können.
- 3) Daß es infolgedessen nicht angeht, die Granulosereaktion ausschließlich zur Differenzierung verschiedener *Leptothrix*-Arten zu verwenden.

Literatur.

- Miller, Die Bakterien der Mundhöhle.
 Boas, Diagnostik und Therapie der Magenkrankheiten.
 Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik.
 Schmidt-Straßburger, Die Faeces des Menschen.
 Nothnagel, Erkrankungen des Darmes und des Peritoneums.

Nachdruck verboten.

A simple method of cultivating anaërobic bacteria.

By **Burt Ransom Rickards, S. B.**

Assistant Bacteriologist, Boston Board of Health Bacteriological Laboratory.
 Boston, Mass., U. S. A.

With 2 figures.

Of all the various methods of cultivating anaërobes, few have the merit of simplicity, many methods requiring complicated or expensive apparatus and troublesome technique. Buchner's method and Wright's method are among the simpler ones and for this reason are probably the most used for routine work. The method here suggested has the advantage of even greater simplicity, absolutely nothing being required

beyond the container of the media and a suitable receptacle for the pyrogallol. The method is applicable to both solid and liquid media and for the making of plate cultures. These will each be considered separately.

Solid media (fig. 1). A tube of media, freshly heated and rapidly cooled, is inverted as soon as inoculated into a tall Stender dish or other suitable receptacle containing a layer of dry pyrogallol. After all the tubes intended for this particular receptacle have been inverted therein, a strong solution of sodium hydroxide is added to a sufficient depth so that after the solution has risen in the tubes, there shall be enough left outside to seal the tubes. Usually at least one inch is necessary. The amount of dry pyrogallol required depends on the number of tubes and the amount of air space contained therein¹⁾. As the oxygen is absorbed, the solution rises in the mouths of the tubes, the final distance to which it rises indicating roughly whether all the oxygen has been absorbed or not.

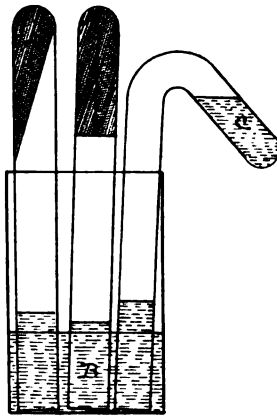


Fig. 1.

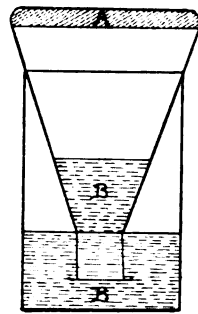


Fig. 2.

A Agar
B Pyrogallol
C Broth

Liquid media (fig. 1). For liquid media, a special form of media tube is necessary. This consists of a tube about seven inches long, the lower two inches of which is bent at an angle of 60 degrees or more, this shorter arm being closed²⁾. After boiling and cooling and inoculating, the media is allowed to run and drain into the closed arm. The tube is then inverted with the open end in the receptacle containing the dry pyrogallol, the same procedure being followed as with solid media.

Plate cultures (fig. 2). For plate cultures, a small Erlenmeyer or a Miquel flask answers well as a container for the media. If counts are desired, a small clear glass plate, suitably ruled, laid upon the bottom of the flask, permits a count to be made without removing the flask from the solution: or, if desired, the Mason-Miller-McPherson³⁾

1) Frost (Laboratory Bacteriology) recommends 1 gr. to every 100 ccm of air space.

2) A form of tube which answers very well for this purpose is that which originated at the Lawrence (Mass.) Experiment Station and which is often used in this country as a handy and cheap substitute for the Smith fermentation tube where qualitative work only is desired.

3) Journ. American Chemical Society. 1898. p. 507.

apparatus might be used. Care should of course be taken that sufficient pyrogallol be furnished so that the seal is not broken as the solution is drawn up into the flask.

The above method for plate cultures is subject to wide variations in the form of the container of the media and of the receptacle for the pyrogallol. For instance, a small beaker might be used in place of a flask, while an evaporating or crystallization dish might be substituted for the Stender dish. Other combinations will readily suggest themselves but a flask is probably the most convenient form. When the tubes or flasks are removed from the pyrogallol, they may be allowed to drain a few moments upon filter or blotting paper or the transfers can easily be made without turning the tubes right side up.

The use of a thin coating of oil or other non-active liquid upon the top of the pyrogallol exposed in the outer dish might be employed to prevent the pyrogallol from becoming spent too quickly by oxidation from the open air, but this precaution has not been found necessary.

The oil does prevent the evaporation of the pyrogallol and its use is on the whole an advantage.

The writer has succeeded in growing *B. tetani* readily in nutrient broth, upon the free surface of dextrose agar slants and in dextrose agar stabs and plates by the methods above described.

The advantages of this method lie in its economy of incubator space, its extreme simplicity and in the ease of manipulation.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakteriologische Diagnose der Pest in Kadavern.

[Aus dem Pestlaboratorium des kaiserl. Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Von Priv.-Dozent **S. J. Zlatogoroff.**

Die Bakteriologie der Bubonenpest steht gegenwärtig auf einem so hohen Standpunkte, daß in frischen Kadavern die Pestdiagnose gewöhnlich keine besonderen Schwierigkeiten bietet. Doch auch hier kommen Fälle vor, in denen zur Zeit der Untersuchung im Organismus nur sehr wenig Mikroben zu finden sind, weil die meisten von ihnen während des Kampfes, den der Organismus dank seiner natürlichen bakteriziden Kraft oder durch Injektion von Serum unterstützt mit ihnen führt, untergegangen sind. In diesen Fällen ist der Tod dadurch bedingt, daß, obgleich der Organismus im Kampfe die Mehrzahl der Bakterien vernichtet hat, diese letzteren dennoch lebensgefährliche Veränderungen in ihm hervorrufen. Die durch geringe Zahl der vorhandenen Bakterien bedingten Schwierigkeiten wachsen in bedeutendem Maße an, sobald es sich nicht um einen frischen Kadaver, sondern um bereits in Verwesung geratenes Material handelt. In diesem Falle sind bekanntlich Pestmikroben, selbst wenn sie im Kadaver in großer Anzahl vorhanden waren, nach Ablauf eines bestimmten Zeitraumes nicht mehr auffindig zu machen. Während auf künstlichen Nährböden der Pestbacillus sich als äußerst lebensfähig erweist [4 Jahre lang, cf. die Untersuchung von N. K. Schulz (1)], erhält er sich im tierischen Organismus bedeutend kürzere Zeit, sei es, daß bei der Verwesung des Kadavers sich ihn über-

wuchernde Mikroben entwickeln, oder daß die saure Reaktion des verwesten Kadavers ihn tötet. Die Ursache dieser Erscheinung war nicht leicht ausfindig zu machen, sie selbst aber war nicht zu bezweifeln. Hiervon konnte ich mich sofort in meinem ersten Versuche überzeugen.

Ein Meerschweinchen wurde am Schenkel mit einer reichlichen Menge einer hochvirulenten Pestkultur subkutan infiziert. Nach 3 Tagen ging das Tier unter typischen Pesterscheinungen ein. Im Drüsenabsceß, dem Blute und den inneren Organen waren überall zahlreiche Mikroben zu konstatieren. Es wurde der Kadaver bei einer Temperatur von ca. $+10^{\circ}$ C belassen und alle 6—7 Tage der Mikrobengehalt in den Organen bestimmt. Mit der Zeit nahm derselbe ab, während die Zahl der Fäulnisbakterien zusehends anwuchs, bis endlich (nach 3 Wochen) keine Pestbacillen mehr nachgewiesen werden konnten.

Es fragt sich nun, ob Pestmikroben in dem verfaulten Kadaver in der Tat ganz fehlen oder ob unsere Untersuchungsmethoden noch zu mangelhaft sind, um den Pestbacillus von anderen Mikroben zu trennen? Diese Frage ist vom praktischen Standpunkte aus von hoher Wichtigkeit. Viele, welche als Sachverständige zur Diagnosestellung der Pest hinzugezogen wurden, wissen, wie schwer und verantwortlich zuweilen die Stellung des Spezialisten bei dieser Sachlage ist. Die Lösung dieser Frage hat für die Pestepidemiologie in Rußland ganz besonderen Wert. Bei uns, wo die Entfernungen immense und die Zahl der Bakteriologen eine sehr geringe ist, müssen die Pestkadaver in Erwartung einer bakteriologischen Untersuchung ganz besonders lange liegen; andererseits werden die Leichen oft vor Ankunft des Spezialisten bestattet und muß infolgedessen dieser letztere irgend welche Kenntnisse darüber haben, wie lange Pestmikroben im Kadaver leben können. Der Zweck meiner Untersuchung war nun eben, diese Lücke nach Möglichkeit auszufüllen. Ich stellte mir als Aufgabe, zu bestimmen, wie lange ein Pestkadaver unter für die Fäulnis günstigen Bedingungen noch eine Infektionsgefahr bietet und ob die Untersuchungsverfahren, welche zur Bestimmung von Pestmikroben in verwesten Leichen vorgeschlagen worden sind und angewandt werden, genügend zuverlässig sind. Außerdem trachtete ich eine möglichst schnelle und genaue Methode zur Isolierung von Pestmikroben aus solchen Leichen ausfindig zu machen. Schließlich stellte ich noch vergleichende Untersuchungen über sämtliche zur bakteriologischen Diagnostik der Pest in frischem Material bei sehr spärlichem Mikrobengehalt vorgeschlagenen Methoden an.

Die Pest wird bekanntlich nicht nur auf Grund mikroskopischer Untersuchungen von Organen und aus ihnen gewonnener Kulturen, sondern auch auf Grund von Tierversuchen diagnostiziert. Letztere sind bedeutend wichtiger als erstere, da in vielen Fällen, wo Pestbacillen nicht direkt aus dem Kadaver kultiviert werden konnten, die Infektion von Tieren mit dem Leichenmaterial zu einem positiven Ergebnis führte. Nach dem Gutdünken zahlreicher Autoren gilt die Methode der österreichischen Kommission, welche im Jahre 1897 in Bombay arbeitete, als die beste (2). Sie besteht darin, daß das zweifelhafte Material in die vordem von Haaren entblöhte, unversehrte Haut verrieben wird. Also lautet die anfängliche Beschreibung dieser Methode. Werden jedoch die Haare beim Tiere abrasiert, so wird hierbei sicherlich die Haut lädiert, und spätere Forscher haben bereits Skarifikationen auf die glattrasierte Haut appliziert, wodurch die Resorption des Bakterienmaterials noch mehr erleichtert wird, oder raten [Martini (3)] das Impf-

material mit Bouillon zu verdünnen und nach der Inunktion eine Probenpunktion des Bubonen vorzunehmen, wodurch, wie der Verfasser behauptet, die Diagnosestellung bedeutend erleichtert wird. Bei diesem Verfahren gelingt es in der Tat, sonstige Mikroben von den Pestbacillen, welche in den Organismus einwandern und eine typische Pesterkrankung hervorrufen, zu trennen. Jedoch besitzt diese Methode auch ihre Schattenseiten, welche darin bestehen, daß die Dauer der Krankheit bei den Meerschweinchen eine höchst langwierige ist; die Tiere gehen 5, 7, 10, ja sogar 14 Tage nach der Infektion zu Grunde. Dieser Nachteil ist ein nicht zu unterschätzender, namentlich wo es sich um schleunige Diagnosestellung handelt. Und dennoch könnte man dieses mit in den Kauf nehmen, wenn die Methode selbst unfehlbar wäre. Leider ist dieses aber nicht der Fall. Die Voraussetzung von Kollé (4), daß man auf diese Weise die Tiere auch mit wenig virulenten Kulturen töten könnte, hat sich nicht ganz bestätigt. Die Untersuchungen von Skrzivan (5) sowie meine Versuche sprechen vielmehr dafür, daß zur Infektion von Meerschweinchen nach der österreichischen Methode eine bedeutende Virulenz des Mikroben erforderlich ist. Folglich konnte man also in einem Objekt, wie es der Kadaver ist, in welchem viele sonstige Mikroben enthalten sind, die Virulenz des Pestmikroben aber mit der Zeit abnimmt, schon a priori keine guten Resultate erwarten. In der weiteren Auseinandersetzung wird man erfahren, inwieweit diese Voraussetzungen sich als wichtige erwiesen haben.

Außer der Inunktion in die Haut ist noch besonders oft die subkutane Einverleibung entweder von Organstückchen oder von Emulsionen derselben in physiologischer Kochsalzlösung ausgeführt worden. Mit dieser Methode erzielt man ausgezeichnete Resultate, solange die Organe noch wenig sonstige Mikroben enthalten. Im entgegengesetzten Falle, sobald sich im Kadaver zahlreiche Fäulnisbakterien entwickelt haben, gehen die Tiere an putrider Infektion und Intoxikation zu Grunde, ehe sich die Pestbakterien vermehrt haben. Trotzdem der subkutanen Einverleibung von Organen dieser Mangel anhaftet, haben sich die Verfasser dieser Methode in den wenig zahlreichen Untersuchungen, welche in der von mir behandelten Frage unternommen worden sind, bedient. In der Literatur habe ich nur die Veröffentlichungen von Vokote und Klein, welche speziell dieser Frage gewidmet sind, sowie die Untersuchungen von Sata, welcher bei Gelegenheit seiner Fütterungsversuche mit Pestmaterial auch verwesene Kadaver untersucht hat, gefunden.

Um zu bestimmen, wie lange die Pestbacillen in beerdigten Kadavern leben können, verfuhr Vokote (6) in der Weise, daß er Mäuse mit Pestbacillen infizierte, ihre Kadaver in hölzerne Kästen legte und dann beerdigte. Die Kadaver wurden in verschiedenen Zeiträumen untersucht und hierbei Stücke derselben wiederum subkutan einverleibt. Die Versuche wurden bei verschiedenen Temperaturen angestellt. Verf. berichtet über dieselben, daß die Anzahl der gefundenen Mikroben um so größer war, je niedriger die Temperatur war, unter welcher sich der Kadaver befand. So wurden bei 0°—10° C (die niedrigste Temperatur in Vokotes Versuchen) Pestbacillen noch nach Verlauf von 22 Tagen gefunden.

Klein (7) verwandte zu seinen Versuchen Meerschweinchen und infizierte sie subkutan mit Pestkulturen; die einen Kadaver wurden in Erde, die anderen in Sand, die dritten endlich in Holz- und Zinnkästen gelegt. In verschiedenen Zeitintervallen wurden die Kadaver heraus-

genommen und eine aus ihren Organen angefertigte Emulsion wiederum Meerschweinchen subkutan einverleibt. Leider gibt Verf. nicht an, bei welcher Temperatur die Kadaver aufbewahrt wurden. Später als wie am 17. Tage konnte er keine Pestmikroben ausfindig machen.

Sata (8) untersuchte die Kadaver von an Pest gestorbenen Tieren, welche 18 Tage lang in der Erde lagen, und bis zum 18. Tage gelang es ihm bei Ratten und weißen Mäusen, Pest hervorzurufen, sobald er ihnen eine aus den Organen der verfaulten Kadaver angefertigte Emulsion subkutan einverleibte. In der Mitteilung Satas finden wir zahlreiche genaue Versuchsprotokolle, welche beweisen, daß diese diagnostische Methode nicht immer befriedigende Resultate erzielen ließ: von einer ganzen Reihe von Tieren blieben viele am Leben, während andere rasch zu Grunde gingen, was augenscheinlich von der Beimischung von Fäulnisbakterien abhing.

Diese wenig ermunternden Ergebnisse hingen vielleicht davon ab, daß die verwandten Untersuchungsmethoden ungenaue waren. Man konnte annehmen, daß bei anderen, genaueren Untersuchungsmethoden auch die Ergebnisse andere sein mußten, und, wie wir weiter unten sehen werden, entsprechen diese Annahmen dem wirklichen Tatbestande. Es mußte eine solche Infektionsmethode angewandt werden, bei welcher die Trennung der Pestmikroben von den Fäulnisbakterien auf die natürlichste und exakteste Weise, durch Filtration im Lymphsystem, stattfände. Von den verschiedenen Gebieten und Organen des Körpers entspricht diesen Bedingungen am ehesten die Nasenschleimhaut, welche vermittelt eines komplizierten Systems von Lymphbahnen mit zahlreichen Halslymphdrüsen zusammenhängt. Außerdem wissen wir dank den Versuchen von Bazaroff (9), daß gegen Pestinfektionen die Nasenschleimhaut der Tiere besonders empfindlich ist: die Tiere gehen an primärer Pestpneumonie zu Grunde.

Von diesen Erwägungen und den Versuchen Bazaroffs ausgehend, beschloß ich, neben anderen Methoden der Infektion von Tieren mit putridem Material auch die „pernasale Einverleibung“ zu erproben. Aber schon bei den ersten Versuchen stieß ich hierbei auf Tatsachen, welche, wie es schien, meinen Hoffnungen nicht entsprachen.

Für die ersten Versuche wurden Exkremeute von an Pest zu Grunde gegangenen Tieren, ein Material, welches neben Pestbacillen auch zahlreiche andere Mikroben enthält, verwandt. Indem ich dieses Material in die Nasengänge der Tiere einbrachte, vermied ich jegliche Läsion der Schleimhaut¹⁾ und je sorgsamer ich hierauf achtete, desto mehr Tiere blieben am Leben; bei denjenigen aber, welche hierbei dennoch zu Grunde gingen, handelte es sich um Bubonenpest. Ferner nahm ich dieselben Versuche mit reinem Pestmaterial (sowohl Organen der Tiere als auch Agarkulturen), welches ich den Tieren (vornehmlich Meerschweinchen) mit größter Behutsamkeit (um die Schleimhaut nicht zu verletzen) und nach den Angaben Bazaroffs in die Nase einbrachte, vor. In diesen Versuchen erzielte ich ebenso unbeständige²⁾ Ergebnisse wie bei Einverleibung von verunreinigtem Material.

Nur in sehr seltenen Fällen kam es in meinen Versuchen zu primärer Pestpneumonie, gewöhnlich aber gingen die Tiere an Bubonenpest zu Grunde. Modifizierte ich jedoch den Versuch in der Weise, daß ich

1) Bazaroff verfuhr bei seinen Versuchen in nämlicher Weise.

2) Zu den nämlichen negativen Ergebnissen kam auch Ivo Bandi, welcher die Versuche Bazaroffs wiederholte.

bei Einbringung des Infektionsmaterials in die Nasengänge die Schleimhaut verletzte, so erhielt ich andere und zwar positivere Ergebnisse: die Tiere gingen entweder unter den Erscheinungen der Bubonenpest (in den meisten Fällen) oder unter denjenigen der putriden Form (in seltenen Fällen) ein.

Diese Ergebnisse der mit Reinkulturen und Exkrementen angestellten Versuche waren so konstant, daß ich in meinen weiteren Versuchen das Infektionsmaterial in die Nasengänge einbrachte, nachdem ich die Nasenschleimhaut verletzt hatte; dieses schien um so mehr angebracht, als es nur selten gelingt, das Infektionsmaterial den Tieren in ihre engen Nasengänge einzubringen, ohne deren Schleimhaut zu lädieren. In den Methoden, deren sich die Autoren zur Ausscheidung von Pestbacillen aus verwesenden Kadavern bedient haben, habe ich also noch die „pernasale Einverleibung“ hinzugefügt.

Meine Versuchsanordnung bestand darin, daß ich die Kadaver von Tieren, welche an experimenteller Pest zu Grunde gegangen waren, in verschiedenen Zeiträumen nach ihrem Tode untersuchte. Die Kadaver wurden sowohl bakterioskopisch als auch bakteriologisch (Kulturen und Tierversuche) untersucht. Als Versuchsobjekt dienten vornehmlich Meerschweinchen, Tiere, welche für experimentelle Pest am ehesten empfänglich sind und außerdem vor anderen kleinen Laboratoriumstieren den Vorzug besitzen, daß die Pesterkrankung bei ihnen pathologisch-anatomisch sehr scharf charakterisiert ist. Die Kultur des Bubonenpestmikroben war im Laboratorium des Forts „Alexander I.“ gewonnen worden und entstammte einem Pestkranken aus Batum. Indem ich die Kultur durch Meerschweinchen passieren ließ, verstärkte ich ihre Virulenz um ein bedeutendes: $\frac{1}{10.000}$ — $\frac{1}{100.000}$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur tötete, subkutan einverleibt, ein Meerschweinchen (von 300—400 g Gewicht) im Laufe von 3—5—6 Tagen.

Ich sehe hier von einer Charakteristik des Mikroben, dessen ich mich bediente, ab, da er sich in seinem Hauptzügen durchaus nicht von den aus Bombay erhaltenen Pestbacillen unterschied. Das zu untersuchende Pestmaterial wurde in der Weise angefertigt, daß ich eine Reihe von Tieren (vornehmlich Meerschweinchen, zuweilen Kaninchen oder weiße Mäuse) mit geringen Mengen Pestkultur unter die Haut des Oberschenkels infizierte, damit der Tod nicht allzu rasch einträte und es zur Entwicklung von Bubonen käme und damit die Mikroben Zeit hätten, sich in allen inneren Organen und im Blute zu entwickeln. Möglichst bald nach dem Tode des Tieres untersuchte ich den Kadaver von außen, bestimmte das Vorhandensein von subkutanen Bubonen durch Palpation und stellte eine Probeuntersuchung von Blut und Bubo (durch Anstechung) auf ihren Gehalt an Pestbacillen an. Zuweilen wurden die Kadaver sezirt, in diesen Fällen wurde eine genaue Untersuchung vorgenommen und dann der Kadaver aufbewahrt. Es versteht sich von selbst, daß die Kadaver nur dann zum Zwecke der Verwesung und weiteren Untersuchung aufbewahrt wurden, wenn die präliminare Untersuchung nachgewiesen hatte, daß das Tier an Pest zu Grunde gegangen war und im Kadaver Pestbacillen gefunden worden waren.

Die Kadaver wurden unter bestimmten Bedingungen im Laufe verschiedener Zeitabschnitte (bis zu $4\frac{1}{2}$ Monaten) aufbewahrt und nach Ablauf einer bestimmten Zeitspanne untersucht. Um die Kadaver den für die Verwesung günstigsten Bedingungen auszusetzen, legte ich sie in offene Glasgefäße, zu denen die Luft freien Zutritt hatte. Wie be-

kannt, hängt die Verwesung von verschiedenen äußeren Bedingungen, unter denen Sauerstoffgehalt der Luft, ihre Temperatur und Feuchtigkeit die hervorragendste Rolle spielen, ab. Die Zersetzung des Kadavers geht um so rascher von statten, je freier der Sauerstoff Zutritt und je höher die Lufttemperatur ist. Jedoch begünstigt hohe Temperatur nur in dem Falle die Zersetzungsprozesse, wenn die Luft einen gewissen Feuchtigkeitsgrad besitzt; im entgegengesetzten Falle tritt Austrocknung (Mumifikation) des Kadavers ein. Allzu reichlicher Wassergehalt (wenn z. B. der Kadaver im Wasser liegt) hemmt augenscheinlich die Verwesung. Schon vor langer Zeit hat Casper (10) in seiner Tabelle der Fäulnistermine in verschiedenen Medien das Wasser zwischen Luft und Erde gestellt und behauptet, daß bei gleicher mittlerer Temperatur eine Woche, welche der Kadaver an der Luft zugebracht hat, 2 im Wasser und 8 in der Erde zugebrachten Wochen entspricht.

In meinen Versuchen waren die Bedingungen die möglichst günstigen, da die Kadaver an der ziemlich feuchten (mit annähernd stets gleichem Feuchtigkeitsgehalt) Luft lagen. Ich veränderte nur die Temperaturverhältnisse, um mehr oder weniger rasche Zersetzung hervorzurufen. Die meisten Versuche wurden bei Temperaturen von $+12^{\circ}$ $+15^{\circ}$ $+17^{\circ}$ C, andere bei solchen von $+30^{\circ}$ $+35^{\circ}$ C, $+3^{\circ}$ $+4^{\circ}$ $+5^{\circ}$ C und bei Temperaturen um 0° C (0° — 1° — 2°), welche bald konstant waren, bald mit höheren und niedrigeren abwechselten, angestellt. Die Pestkadaver, welche mehr oder weniger lange nach dem Tode des Tieres gelegen hatten, wiesen natürlich verschiedene Grade von Zersetzung, von kaum merkbaren Spuren derselben (in frischen Kadavern) bis zu kompletter Zersetzung sämtlicher Organe (was nach 2 Monaten bei $+12^{\circ}$ C beobachtet wurde) auf.

Die Einwirkung der Temperatur auf den Grad der Zersetzung war eine eklatante. Während bei Temperaturen unter 0° C die Kadaver sogar im Laufe von einigen Monaten sich wenig zersetzten, fand bei $+30$ $+35^{\circ}$ C vollständige Zersetzung schon nach 4—5 Tagen statt. In gleicher Weise zersetzte sich der Kadaver ziemlich rasch, wenn er abwechselnd zum Gefrieren und Auftauen gebracht wurde. Von den verschiedenen inneren Organen blieben die Lungen am längsten unversehrt. Die subkutanen Bubonen zersetzten sich sehr rasch und konnten nur in ganz frischen Fällen oder in gut erhaltenen Kadavern untersucht werden.

Von den Bauchorganen erwies sich die Leber am resistantesten, die Milz aber zersetzte sich viel früher und in Kadavern, welche bei $+12^{\circ}$ C gelegen hatten, konnte ich schon nach 4 Wochen nur mit Mühe noch Ueberbleibsel derselben auffinden. Die Untersuchung des Kadavers wurde in folgender Weise vorgenommen: Erlaubte es der Zustand, in dem sich der Kadaver befand, so fertigte ich bei der Sektion, welche unter Einhaltung sämtlicher Kautelen gegen Verunreinigung von außen und namentlich von den benachbarten Organen¹⁾ aus vorgenommen wurde, Strichpräparate aus Bubonen, Herzblut, Lunge, Leber und Milz sowie Bouillon- und Agarkulturen aus den nämlichen Organen

1) Ist der Kadaver schon stark verwest, so kann man sich nur mit Mühe gegen Verunreinigung der Bauchorgane (Leber, Milz) mit dem Inhalt des Darmes, welcher gewöhnlich viel früher zersetzt wird, schützen. Die Stückchen dieses Organes mußten sorgfältig in steriler physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen werden, um sie von den anhaftenden Verunreinigungen zu befreien, und erst dann konnte ich zur Verimpfung derselben schreiten.

an. Ferner wurden mit den Organen der Kadaver Meerschweinchen (zuweilen weiße Mäuse und Ratten) in verschiedenster Weise infiziert. Da bei experimenteller Pest die Milz die meisten Pestmikroben enthält, wurde dieses Organ nach Möglichkeit in allen Versuchen zur Infektion der Tiere verwandt. Konnte ich es jedoch bei starker Verwesung des Kadavers nicht auffinden, so benutzte ich die Leber zu diesem Zwecke. Außerdem diente in frischeren Kadavern auch der Inhalt der Bubonen zur Infektion. Zu jedem Versuche verwandte ich 5—9 Meerschweinchen (nach Möglichkeit von gleichem Geschlecht, Gewicht und gleicher Spezies). Die Infektion führte ich stets in dreierlei Weise aus, und zu jeder Methode nahm ich je 2 (manchmal je 3) Tiere. Das Infektionsmaterial wurde subkutan, epidermal und perinasal einverleibt. Zuweilen fütterte ich die Tiere mit dem Infektionsmaterial oder brachte es ihnen in den Konjunktivalsack ein.

Ich beschränkte mich auf die besagten 3 Methoden, da sie als die sichersten gelten. Die perorale Infektion mußte, wie präliminare Versuche nachgewiesen hatten, bei Meerschweinchen als die weniger sichere Methode, vermieden werden, während bei Ratten hierbei konstantere Resultate zu erzielen sind. Aus diesem Grunde habe ich meine übrigens spärlichen Versuche mit peroraler Infektion nach Möglichkeit an Ratten angestellt.

Zum Zwecke der subkutanen Infektion wurden die oben erwähnten Organe im Mörser mit physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig zu einer Emulsion verrieben. Es wurde jedesmal eine konzentrierte Emulsion aus einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung und des Organes angefertigt und dann dem Tiere in der Menge von 0,1—0,2 und 0,5—1 ccm (2 Meerschweinchen) in die Flanken gespritzt.

Stückchen derselben Organe wurden mit dem Skalpellerücken oder einer stumpfen Pinzette in die Haut der hinteren, seitlichen Bauchregion verrieben, nachdem die Haut glatt rasiert und desinfiziert worden war. Trotz aller Mühe konnten beim Rasieren Verletzungen der Hornschicht nicht vermieden werden, da das Fell des Meerschweinchens im Vergleich zu demjenigen des Kaninchens z. B. hart ist. Das Material wurde 2—3 Tieren verrieben, wobei bei einem derselben hiervor die Haut angeritzt wurde¹⁾. Die Inunktion wurde so lange fortgesetzt, bis sämtliches Material in die Haut verrieben war. Weiter wurden Stückchen derselben Organe den Tieren (2—3) in die Nase eingebracht. Vordem wurde in die unteren Nasengänge eine scharfspitzige Pinzette oder Nadel eingeführt und mit dieser die Schleimhaut geritzt. Der hierbei hervortretende Blutstropfen deutete den Erfolg dieser Manipulation an. Einer stärkeren Blutung suchte ich vorzubeugen, da sie die spätere Resorption des Infektionsmaterials behindern konnte; andererseits war eine Verletzung der Schleimhaut notwendig, wollte ich des Erfolges der Verimpfung sicher sein. Weiter wurden linsen- oder hirsekorngroße Organstückchen mit der Pinzette gefaßt und in die unteren Nasengänge eingebracht. Durch drehende Bewegungen mit der Pinzette wurde schließlich das Infektionsmaterial mit der Nasenschleimhaut in Berührung gebracht und in diese verrieben²⁾.

1) Bei der epidermalen Inunktion wurde also die Hornschicht bei sämtlichen Meerschweinchen mehr oder weniger lädiert. Bei Kaninchen kann das Haar ohne sichtbare Verletzungen rasiert werden.

2) Ich weise mit Nachdruck auf diesen Mißstand hin, da ohne vorhergehende Verletzung der Schleimhaut und sorgfältige Einreibung der Versuch negativ ausfallen kann.

Wurden 2—3 Organe untersucht, so verimpfte ich an jedes Kaninchen jedesmal nacheinander Stückchen all dieser Organe pernasal. Die perorale Infektion wurde in der Weise vorgenommen, daß ich dem Tiere Organstückchen in den Mund legte und das Tier (namentlich Meerschweinchen) dasselbe sofort hinunterschluckte. Zur Erreichung der konjunktivalen Infektion schmierte ich mit der Organpulpa mehrmals über die Conjunctivaoberfläche.

In den Fällen, wo es mir gelang, direkt aus dem Kadaver auf künstlichen Nährmedien Pestbacillenkulturen zu züchten, untersuchte ich die letzteren auf ihre Virulenz für Meerschweinchen. Besonders achtete ich hierauf, wenn der Kadaver mehrmals im Laufe der Verwesung untersucht wurde.

Diesem Gange der Untersuchung entsprechend, konnte ich also einerseits diejenigen morphologischen und biologischen Veränderungen studieren, welche der Pestbacillus in Kadavern eingeht, andererseits aber verfolgen, wie lange der Pestbacillus in Kadavern in dem Falle, wenn die Bedingungen des Luftzutrittes die möglichst günstigen sind und bei verschiedenen Temperaturen fortbestehen kann. Beim vergleichenden Studium der verschiedenen Methoden der Isolation des Pestbacillus aus dem Kadaver konnte festgestellt werden, daß in den verschiedenen Stadien der Verwesung des Kadavers verschiedene Methoden den Vorzug verdienen, und daß zum Zwecke der möglichst erfolgreichen Infektion die pernasale Methode besonders empfohlen werden kann.

Von genauen Versuchsprotokollen sehe ich hier ab, will jedoch einige bemerkenswerte Details der Versuche hervorheben und die Versuchsergebnisse wiedergeben. Ich habe dieselben in 4 Tabellen, welche deutlich ersehen lassen, inwieweit die Pesterkrankung in Kadavern bei verschiedenen Zersetzungsbedingungen diagnostiziert werden kann, zusammengestellt.

Ehe ich zur Auseinandersetzung der Versuchsergebnisse übergehe, muß ich über diejenigen Versuchsbedingungen, welche dieselben sichtlich beeinflussen können, berichten. Damit die Versuchsergebnisse verglichen werden können, müssen die Versuchsobjekte kurz nach dem Tode 1) eine große und 2) eine annähernd gleiche Menge von Pestmikroben enthalten. In den Fällen, wo der Kadaver wenig Mikroben enthält, sind dieselben unter sonst gleichen Bedingungen im Laufe eines geringeren Zeitraumes ausfindig zu machen; ist in einer Serie von Tierkadavern, welche verschieden lange Zeit aufbewahrt werden, der Mikrobengehalt ein ungleicher, so sind die nacheinander folgenden Versuchsergebnisse nicht untereinander zu vergleichen. Um also Fehlern aus dem Wege zu gehen, nahm ich zum Vergleich nur solche Kadaver, in denen der Mikrobengehalt ein annähernd gleicher war.

Was vor allem in meinen Versuchen in die Augen springt, ist der Einfluß, welchen die Temperatur der den Kadaver umgebenden Luft auf die Möglichkeit, die Pesterkrankung zu diagnostizieren, ausübt. Je höher die Temperatur, um so geringer ist der nach dem Tode des Tieres ablaufende Zeitraum, im Laufe dessen es noch gelingt, den Pestmikroben zu kultivieren, und umgekehrt. Während bei $+30^{\circ}$ $+37^{\circ}$ C der Pestbacillus schon nach 7 Tagen nicht mehr ausfindig gemacht werden kann, ist dieses bei $+12^{\circ}$ $+15^{\circ}$ $+18^{\circ}$ C erst nach 28 Tagen, bei $+3^{\circ}$ $+4^{\circ}$ nach 109 Tagen, im gefrorenen Kadaver aber erst nach 140 Tagen nicht mehr möglich. Letztere Zahl kann wahrscheinlich auch noch viel

höher genommen werden, jedoch konnte ich den Versuch nicht weiter ausdehnen.

Wenden wir uns zu den Methoden, mit deren Hilfe es uns gelang, in den verschiedenen Fällen die Pesterkrankung zu diagnostizieren, so sehen wir, daß die sicherste von ihnen die direkte Infektion der Tiere mit dem verdächtigen Material ist, denn durch Kulturen konnte der Bacillus aus verwesenden Kadavern bei niedrigen Temperaturen ($+4^{\circ}$ und niedriger) nur nach 41 und 102 Tagen bestimmt werden; bei $+12^{\circ}$ $+15^{\circ}$ C konnte der Bacillus nur noch am 19. Tage, bei $+30^{\circ}$ C nur noch am 2. Tage kultiviert werden (vergl die Tabellen). Dieses ist ja auch ganz begreiflich: je höher die Temperatur und je energischer infolgedessen die Zersetzung vor sich geht, in desto größerer Menge entwickeln sich die Fäulnisbakterien, welche allmählich den Pestbacillus ganz und gar überwuchern, so daß er schließlich in Kulturen gar nicht mehr isoliert werden kann. Bei niedrigen Temperaturen aber entwickeln sich Fäulnismikroben sehr schwach oder auch gar nicht und deshalb kommt ein solcher Kadaver, selbst wenn er lange gelegen hat, in gewisser Hinsicht¹⁾ einem frischen gleich; die Mikroben behalten in ihm lange ihre Lebensfähigkeit bei und namentlich in denjenigen Organen, welche von den benachbarten Organen und Flüssigkeiten durch derbe Membranen (wie z. B. in den Bubonen, Vers. 19, 30 und 35) getrennt sind.

Welche Methode von direkter Infektion der Tiere mit dem Kadavermaterial hat nun zu den allerbesten Ergebnissen geführt? Durchmustern wir die Tabellen, so sehen wir, daß alle von mir angewandten Infektionsmethoden sich in vielen Fällen als ausreichend erwiesen; bei genauerer Analyse der Versuche nach Serien und Temperaturen lassen sich jedoch folgende Details verzeichnen. In wenig veränderten Kadavern (frischen oder solchen, die lange bei niedrigen Temperaturen gelegen hatten) bot die Pestdiagnose keine Schwierigkeiten, da in Kulturen der Pestbacillus stets leicht zu isolieren war und die direkte Infektion von Tieren (Meerschweinchen) stets zu positiven Ergebnissen führte. Besonderen Vorzug unter allen Infektionsmethoden verdient die subkutane oder namentlich intraperitoneale Injektion der Emulsion. Die auf diese Weise infizierten Tiere gehen schon in 24 Stunden (intraperitoneale Infektion) oder nach 2—3 Tagen (subkutane Infektion) ein und alle ihre Organe enthalten zahlreiche Pestbacillen.

Die Infektion der Tiere durch Inunktion ist der pernasalen Einverleibung des Infektionsmaterials²⁾ durchaus nicht vorzuziehen, da die Tiere in beiden Fällen nach Verlauf mehrerer Tage ($2\frac{1}{2}$ —6, Versuch 1, 7—12, 28—31 und Tabelle IV) zu Grunde gehen. Aus Tabelle IV ersieht man, welche Infektionsmethode bei der Untersuchung schwach verwester Kadaver am raschesten zum Ziele führt.

In verwesenen Kadavern liegen die Verhältnisse schon anders. Die subkutane Infektion von Tieren mit der Organemulsion führt oft zu einem negativen Ergebnisse, da die Tiere unter Einwirkung der stark gewucherten und giftigen Fäulnisbakterien rasch zu Grunde gehen. In einigen Fällen (Versuche 16, 17, 21, 31) entwickelte sich dennoch eine Pestinfektion und zwar dann, wenn geringe Dosen Emulsion subkutan

1) Ein Kadaver, der, wenn auch bei niedriger Temperatur, jedoch lange gelegen hat, kann trotzdem nicht einem frischen vollkommen ähneln, schon deshalb nicht, weil in ihm feine physikochemische, autolytische und Gärungsprozesse stattfinden.

2) Wie ich schon früher erwähnt habe, wurden die Tiere pernasal infiziert, nachdem ihre Nasenschleimhaut verletzt worden war.

injiziert wurden. Die epidermale Inunktion schlug gleichfalls nicht selten fehl; die Meerschweinchen blieben am Leben oder starben, wenn dieses nicht der Fall war, erst recht spät (bis zu 10 Tagen nach der Injektion). Die pernasale Infektion zeitigte in diesen Fällen viel bessere und beständigere Resultate: die Tiere gingen rascher (nach $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ —4 Tagen) ein und aus all ihren Organen konnten Pestmikroben kultiviert werden (Versuche 13—19, 2—3, 30—31). Bei den Tieren entwickelte sich die Bubonenform, und zwar waren die Halsbubonen am stärksten entwickelt, und die sehr vergrößerte Milz wies oft typische Pestknötchen auf; Pneumonien wurden nur selten beobachtet. Die Halsbubonen entwickelten sich so rasch, daß man schon nach 24 Stunden das Meerschweinchen töten und in aus dem Buboneninhalte angefertigten Strichpräparaten typische Pestbacillen nachweisen konnte.

Will man in stark verwesenen Kadavern, in welchen die Organe nur noch mit Mühe wiederzuerkennen sind, Pestmikroben ausfindig machen, so verdient die pernasale Infektion noch mehr Beachtung. In solchen Kadavern sind bekanntlich die Fäulnis-mikroben sehr wenig virulent und giftig und deshalb tötet die subkutane Infektion der Tiere mit der Emulsion dieselben nicht. Die epidermale Inunktion führt gleichfalls zu keinem positiven Resultate und nur die pernasale Infektion tötet das Tier, bei dem man zuweilen (in Strichpräparaten und Kulturen (Versuche 4, 5, 21, 22, 32 und 33) Pestbacillen ausfindig machen kann.

Worin liegt nun der Grund, daß namentlich bei Einverleibung von putridem Material die pernasale Infektion sich im Vergleich zu den anderen Methoden als so vorzüglich erweist? Daß dieser Infektionsweg der raschen Entwicklung des Virus einige Schwierigkeiten bietet, wird leicht begreiflich, wenn man bedenkt, ein wie verwickeltes Netz von Lymphbahnen die Mikroben zu passieren haben, ehe sie in den allgemeinen Blutkreislauf gelangen.

In meinen Versuchen mit reinem Pestmaterial findet man einige Beweise für diese Annahme: die pernasal infizierten Tiere lebten nicht selten länger als die auf andere Weise infizierten. Der Hemmungsmechanismus der Halslymphdrüsen wirkt also prompter als die übrigen ähnlichen Mechanismen.

Bei der pernasalen Einverleibung von mit Fäulnisprodukten verunreinigtem Material gehen jedoch die Tiere rascher zu Grunde als bei der Infektion mit reinem Pestmaterial; es hat also beinahe den Anschein, als ob dank der Fäulnis-mikroben die Pestbacillen mit größerem Erfolge ins Blut durchdringen und daß hierbei die Lymphdrüsen einen Teil ihres Hemmungsvermögens einbüßen. Möglicherweise wirken die Fäulnisbakterien auf die Gewebe ungünstig ein, weshalb die Mikroben rascher in die Lymphdrüsen und den allgemeinen Blutkreislauf durchdringen.

Die von mir in dieser Richtung angestellten Versuche mit Reinkulturen von Fäulnis- und Pestmikroben scheinen diese Annahme zu bestätigen. Infiziert man ein Meerschweinchen durch die Nasenschleimhaut erst mit Fäulnis-mikroben (*Bac. proteus vulg.*) und dann nach einigen Stunden mit einer Pestkultur, so erliegt es der Bubonenpest eher als ein Tier, das nur mit der Pestkultur infiziert worden ist.

Mit dieser Methode gelingt es also rascher und sicherer, in verfaulten Kadavern den Pestbacillus zu isolieren als mit anderen Methoden. Durch Infektion von Tieren in Conjunctiva und Magen erzielt man weniger bestimmte Resultate.

Da ich der schädlichen Einwirkung von Fäulnis- und Gärungsmikroben bei der subkutanen Infektion von Tieren vorbeugen wollte, versuchte ich, entsprechend den Angaben der deutschen Kommission, das ein Gemisch von Pest- und Fäulnis- und Gärungsmikroben enthaltende Infektionsmaterial der Gefrier- oder Frosttemperatur auszusetzen, in der Hoffnung, daß auf diese Weise die Wirkung der Fäulnis- und Gärungsmikroben paralytisch werden würde. Ich muß bemerken, daß es auf diese Weise¹⁾ in vielen Fällen gelang, bei Meerschweinchen nach subkutaner Injektion die Pestkrankung hervorzurufen, während unter Einwirkung von nicht gefrorenem Material die Meerschweinchen unter Erscheinungen von putriden Infektion zu Grunde gingen. Die pernasale Einverleibung von zu diesem Zwecke gefrorenem Material bot durchaus keine Vorzüge.

Es konnte also durch verschiedene Methoden die bedeutende Lebensfähigkeit der Pestmikroben in Kadavern trotz der Konkurrenz von Fäulnisbakterien festgestellt werden. Bei Hintanhaltung der Zersetzungsprozesse ist die Lebensfähigkeit der Pestmikroben im Kadaver eine geradezu erstaunende. In meinen Versuchen konnte ich den Pestbacillus noch 140 Tage nach dem Tode des Tieres züchten. Es ist leicht möglich, daß es gelingen wird, auch noch später eine Pestkultur zu gewinnen, jedoch sind hierzu wahrscheinlich konstante niedrige Temperaturen notwendig. Starke Schwankungen der Lufttemperatur, Gefrieren und darauffolgendes Auftauen beeinflussen das Ergebnis der Züchtungsversuche in ungewünschter Weise.

So konnte ich in einem Falle (Versuch 36, Tabelle IV), wo ein gefrorener Meerschweinchenkadaver wiederholt zum Auftauen gebracht wurde, keine Pestbacillen züchten, während dieses bei einem anderen Meerschweinchenkadaver, welcher die ganze Zeit über in gefrorenem Zustande aufbewahrt wurde (Versuch 37), noch viel später gelang.

Daß Pestbacillen in künstlichen Kulturen ihre Virulenz viele Jahre hindurch bewahren können, ist längst bekannt (vergl. die Mitteilung von N. K. Schulz); die Virulenz des Mikroben erhält sich auch sehr gut, wenn das ihn enthaltende Material gegen Austrocknung und Licht geschützt wird. Wie verändert sich nun in seinen biologischen Eigenschaften der Pestbacillus, welcher mehrere Monate lang im Tierkadaver zugebracht hat? Seine Fähigkeit, auf künstlichen Nährmedien zu gedeihen, verändert sich sehr wenig; in der ersten Kultur scheint der Wuchs schwächer zu sein und demjenigen nachzustehen, welchen man in den Kontrollröhren, die mit von einem eben gefallenen Tiere entnommenen Pestbacillus geimpft worden sind, beobachtet. Die dem Pestbacillus eigenen biologischen Merkmale, wie Unbeweglichkeit, negatives Verhalten gegen Gramsche Färbung, Wuchs auf Gelatine, Milch, die Indolreaktion, die Fähigkeit, durch ein spezifisches Serum agglutiniert zu werden und das Verhalten gegen den Tierorganismus bleiben jedoch in vollem Maße bestehen. Betrachten wir die unten angeführten Tabellen, so sehen wir, daß auch die Virulenz sehr wenig Abbruch erleidet. Nur bei der epidermalen Injektion mit altem Material gehen die Tiere später zu Grunde als bei der nämlichen Behandlung mit frischem Material. Aus den mit Kadavermaterial angestellten Versuchen auf Veränderungen der Virulenz zu schließen, fällt natürlich schwer, da man nie sicher

1) Die Einwirkung niedriger Temperaturen darf nicht weniger als 24 Stunden, am besten 2—3 Tage dauern, auftauen muß das Material in kalter physiologischer Kochsalzlösung, in welcher das zur Anfertigung der Emulsion notwendige Material verrieben wird.

sein kann, daß die Menge des infizierenden Materials jedesmal die nämliche ist.

Um diese Frage nach Möglichkeit zu entscheiden, habe ich folgende Versuche angestellt. Meerschweinchen wurden mit einer bestimmten Menge einer hochvirulenten Pestkultur, z. B. $\frac{1}{20000}$ ccm Bouillonkultur, einer Dosis, welche der geringsten tödlichen fast gleich, infiziert. Wenn bei der in verschiedenen Zeiträumen nach dem Tode des Tieres vorgenommenen Untersuchung seines Kadavers der Pestbacillus direkt gezüchtet werden konnte (z. B. in Kadavern, welche bei niedriger Temperatur aufbewahrt worden waren), so wurden von der auf diese Weise erhaltenen neuen Kultur Verdünnungen von $\frac{1}{20000}$ und niedriger angefertigt und wiederum Meerschweinchen injiziert. War dieses jedoch nicht möglich, so untersuchte ich in gleicher Weise Kulturen zweiter Generation, welche durch Impfung neuer Tiere mit den Kadavern der Ersten erhalten worden waren. Schließlich verfügte ich noch über ein Meerschweinchen, welches nach dem an Pest erfolgten Tode bei niedriger Temperatur aufbewahrt wurde und aus dessen Milz ich von Zeit zu Zeit Kulturen anfertigte, die dann untersucht wurden.

Auf Grund dieser Versuche konnte ich (soweit dieses überhaupt möglich ist) feststellen, daß die Virulenz hochvirulenter Pestbacillen um viele Male, zuweilen, wenn die Mikroben mehrere Monate im Kadaver verbracht haben, vielleicht auch mehrere Zehner von Malen abgeschwächt wird.

So wurde in Versuch 35 das Meerschweinchen mit $\frac{1}{100000}$ ccm einer 24-stündigen Pestbacillenbouillonkultur infiziert und ging nach 4 Tagen ein. Nach 102 Tagen tötete die aus dem Kadaver gewonnene Pestkultur ein Meerschweinchen nur noch in der Menge von $\frac{1}{10000}$ ccm und sogar mehr.

Vielleicht hätten schwachvirulente Kulturen mehr von ihrer Virulenz eingebüßt? Die Veränderungen der Virulenz des Pestmikroben, welcher lange Zeit im Kadaver zugebracht hat, sind in praktischer Beziehung wichtig und verdienen näher studiert zu werden.

Waren die Veränderungen der Virulenz der Pestmikroben im Kadaver schwer genau zu kontrollieren, so konnten die morphologischen Veränderungen des Pestbacillus dagegen genau studiert werden. Verfolgt man Tag für Tag die Morphologie der Mikroben im verwesenden Kadaver, so kann man leicht gewahren, wie sie sich allmählich in Form und Tinktionsfähigkeit verändern und wie die Organe allmählich von anderen Mikroben überflutet werden. Am längsten konnten die Pestbacillen in bei niedrigen Temperaturen aufbewahrten Kadavern wiedererkannt werden (bei $+4^{\circ}$ C noch nach 25 Tagen); bei rasch eintretender Verwesung (bei $+35^{\circ}$ C) war das Bild schon nach 2 Tagen ein undeutliches, bei $+12^{\circ}$ $+14^{\circ}$ C konnte man noch nach 10 Tagen die Pestmikroben genau unterscheiden. Die Veränderungen, welche die Pestmikroben erfahren, bestehen darin, daß sie die Färbung weniger leicht annehmen, ihre bipolare Zeichnung weniger deutlich wird und schon nach 5—6-tägigem Liegen des Kadavers (zuweilen sogar früher) treten in den Organen, zuweilen sogar in den Bubonen, kugelförmige, sich schwach färbende Formen (sogenannte Schatten) auf. In den Mikroben macht sich die Neigung zur Quellung und Verwandlung in sphäroidale Formen bemerkbar, wobei man oft die äußeren Konturen des Mikrobenkörpers nur mit Mühe unterscheiden und nur aus dem Vorhandensein von Körnern schließen kann, daß hier ein Bacillus liegen

muß; letzterer nimmt nicht selten Dimensionen an, die seine gewöhnliche Größe bei weitem übertreffen. In alten Kadavern sind die Pestmikroben gleichsam mit einer Membran, welche zuweilen sehr scharf hervortritt, umgeben. Es kommen auch Formen mit sehr unregelmäßigen, ausgenagten Konturen vor. Nach Gram färben sich diese veränderten Mikroben im Gegensatz zu den übrigen hier reichlich vertretenen Bakterien nicht. Man sieht zuweilen fadenartige Anaërobenformen, welche oft Sporen enthalten. Die Umwandlung von Pestmikroben in Fadenformen findet selten und in beschränktem Maße statt, und jedes Präparat (aus dem Kadaver), in welchem fadenförmige Bakterien enthalten sind, deutet bereits auf die starke Entwicklung von Fäulnisprozessen hin. Die verunreinigenden Mikroben verdrängen in mikroskopischen Präparaten allmählich die typischen Pestbacillen und dieses macht sich viel früher bemerkbar, als die Kulturen ein in Bezug auf den Gehalt an Pestmikroben negatives Verhalten offenbaren.

Ich will hier in Kürze die hauptsächlichsten Ergebnisse der verschiedenen Gruppen meiner Versuche wiedergeben.

Bei + 30—35° C bewahrte ich die Kadaver bis zu 8 Tagen auf (1. Versuchsreihe); untersucht wurden sie nach 5, 24, 48 Stunden, 4, 5 und 7 Tagen. In Strichpräparaten konnten Pestmikroben noch nach 24 Stunden konstatiert werden, nach 2 Tagen war das Bild kein deutliches mehr. In Kulturen konnte der Pestbacillus nicht später als nach 2 Tagen (und auch dann nur aus der Milz durch Plattenkulturen) gezüchtet werden. In Tierversuchen konnte der Pestbacillus noch nach 5 Tagen aus dem stark verwesten Kadaver (durch pernasale Einverleibung) isoliert werden (siehe Tabelle I).

Tabelle I.
Untersuchung von Kadavern, welche bei + 30° + 35° C gelegen hatten.

No. der Versuche	Zeitraum, in welchem (nach dem Tode des Tieres) die Untersuchung vorgenommen wurde	Untersuchung von Strichpräparaten	Aus den Mikroben enthaltenden Organen angelegte Kulturen
1	5 Stunden	Pest	Pest
2	24 "	"	"
3	48 "	?	" (Milz)
4	4 Tage	—	—
5	5 "	—	—
6	7 "	—	—

No. der Versuche	Infektion der Tiere		
	subkutane Injektion der Emulsion	epidermale Injunktion	pernasale Einverleibung
1	Pest (2 $\frac{1}{2}$, 3 Tage)	Pest (4, 5 Tage)	Pest (3, 4 Tage)
2	" (3 $\frac{1}{2}$, Tage)	" (5, 7 Tage)	" (3, 4 Tage)
3	—	" (5 Tage)	" (2 $\frac{1}{2}$, 3 Tage)
4	—	—	—, Pest (3 Tage)
5	—	—	—, " (3 $\frac{1}{2}$, Tage)
6	—	—	—

In der 2. Versuchsreihe (siehe Tabelle II), wo die Kadaver bei + 12° — 15° — 18° C) aufbewahrt wurden, untersuchte ich sie in Zeiträumen von wenigen Stunden bis zu 70 Tagen. In Strichpräparaten konnten noch nach 10 Tagen für Pest typische Kugelformen (in Bubonen

Tabelle II.
Untersuchung von Kadavern, welche bei + 12° + 15° + 18° gelegen hatten.

No. der Ver- suche	Alter des Kadavers	Untersuchung von Strichpräparaten	Kultur von Organtheilen	Infektion der Tiere		
				subkutane Injektion der Emulsion	epidermale Inunktion	pernasale Einverleibung
7	2 Stunden	Pest	Pest	Pest (2, 3 1/2 Tage)	Pest (4 u. 5 Tage)	Pest (4 und 5 Tage)
8	12 "	"	"	(2 Tage)	" (2 1/2 u. 3 1/2 Tage)	" , Pest (5 Tage)
9	15 "	"	"	(14 St.) (intra-perit.)	" (2 1/2 u. 3 1/2 Tage)	Pest (2 1/2 u. 3 1/2 Tage)
10	24 Tage	" (Bubo)	" (Bubo)	(2 Tage, 17 Tage)	" (2 1/2 u. 3 1/2 Tage)	" , Pest (5 1/2 Tage)
11	3 1/2 "	" (Milz)	" (Leber)	? , Pest (2 Tage)	" —	" , " (2 Tage)
12	4 1/2 "	"	"	(2 Tage)	Pest (5 1/2 Tage)	Pest (4 Tage)
13	4 1/2 "	"	"	(4 Tage)	" , Pest (5 Tage)	" (3 und 4 Tage)
14	7 "	"	" (Bubo)	Pest (3 1/2, 3 1/2 Tage)	" (9 1/2 Tage)	" (2 1/2 und 3 Tage)
15	9 "	"	" (Bubo)	" , Pest 3/2 (2 Tage)	Pest (8 1/2 u. 6 Tage)	" (4 1/2 und 4 Tage)
16	10 "	"	" (Blut)	" , Pest 3/2 (2 Tage)	" (5 1/2 T.), — Pest (6 T.)	" (3 1/2, 2 1/2, 5 Tage)
17	10 "	"	"	Pest? (36 St.), do. (14 T.)	" (4 1/2 und 5 1/2 Tage)	" (5 und 4 Tage)
18	12 "	"	" (Bubo)	" (3 1/2 T.), do. ? (3 1/2 T.)	" (7 1/2 und 7 1/2 Tage)	" (3 und 3 1/2 Tage)
19	14 "	"	" (Bubo, Leber)	" (3 1/2 und 3 1/2 Tage)	" , Pest (8 1/2 Tage)	" (4 und 4 1/2 Tage)
20	19 "	"	" (Bubo)	" , Pest (3 1/2 Tage)	" —	" (4 und 4 1/2 Tage)
21	24 "	"	"	" , Pest (3 1/2 Tage)	" —	" , Pest (4 1/2 Tage)
22	27 "	"	"	" , " (6 1/2 u. 5 T.)	" —	Pest (3 und 4 Tage)
23	28 "	"	"	" —	" —	" —
24	33 "	"	"	" —	" —	" —
25	40 "	"	"	" —	" —	" —
26	41 "	"	"	" —	" —	" —
27	55 "	"	"	" —	" —	" —
27	70 "	"	"	" —	" —	" —

Tabelle III.
Untersuchung von Kadavern, welche bei +3° + 4° + 5° + 6° C gelegen hatten.

No. der Versuche	Alter des Kadavers	Untersuchung von Strichpräparaten	Kulturen von Organ- teilen	Infektion der Tiere	
				subkutane Injektion der Emulsion	epidermale Inunktion
28	5 Tage	Pest	Pest	Pest (2 und 3 Tage) (3 und 4 Tage)	Pest (5 und 6 Tage) , Pest (6 Tage)
29	25 "	"	"	" (4 Tage)	" (8 Tage)
30	41 "	"	(Bubo)	"	"
31	60 "	"	"	Pest (4 Tage)	"
32	87 "	"	"	"	"
33	108 "	"	"	Pest (4 Tage)	"

Tabelle IV.
Untersuchung von Kadavern, welche bei 1° 3° 3° C gelegen hatten.

No. der Versuche	Alter des Kadavers	Untersuchung von Strichpräparaten	Kulturen aus Organ- teilen	Infektion der Tiere	
				subkutane Injektion der Emulsion	epidermale Inunktion
34	75 Tage	?	Pest	Pest (4 und 4 1/2 Tage) (3 und 4 Tage)	Pest (5 Tage) , Pest (7 Tage)
35	102 "	"	" (Bubo)	"	" (4 und 5 Tage)
36	133 "	"	"	"	"
37	140 "	"	?	Pest (3 1/2 und 4 1/2 Tage)	Pest (5 und 4 Tage)

1) Das Material wurde vor der Einverleibung bei Gefrier-temperatur gehalten.
2) Dieses Meerschweinchen wurde bei wechselnder Temperatur, bald über 0°, bald unter 0°, gehalten.

und Milz) wiederkannt werden. Bei Aussaaten konnte der Pestbacillus noch nach 19 Tagen (Versuch 19), jedoch nur aus den Bubonen kultiviert werden. In Tierversuchen (pernasale Einverleibung) fand ich den Bacillus noch in einem Kadaver, welcher 28 Tage lang gelegen hatte.

In der 3. Versuchsreihe (siehe Tabelle III) wurden die Kadaver bei $+3^{\circ} + 4^{\circ} + 5^{\circ} \text{ C}$ 5—110 Tage lang aufbewahrt. Bis zum 25. Tage erhielten sie sich ziemlich gut und wiesen nur unbedeutende Zersetzungserscheinungen auf; bis zu diesem Termin konnten auf Strichpräparaten leicht die für Pest typischen sphäroidalen Formen wahrgenommen werden. Gezüchtet werden konnten die Bacillen noch nach 41 Tagen aus einem sichtlich verwesenen Kadaver (aus dem Lymphdrüsengeschwür). Durch Infektion von Tieren konnte ich den Pestbacillus in stark verwesenen Kadavern noch nach 87 Tagen, in wenig verwesenen Kadavern sogar nach 109 Tagen (Versuch 32 und 33) ausfindig machen, und zwar im ersten Falle durch pernasale Einverleibung, im zweiten Falle durch subkutane und pernasale.

In der 4. Versuchsreihe (siehe Tabelle IV) konnte man dank der niedrigen Temperatur sehr protrahierte Lebensfähigkeit der Pestbacillen erwarten, und deshalb wurden die Versuche nur an Kadavern, welche lange Zeit über, 75—140 Tage, in Eis (bei $-1^{\circ} - 2^{\circ} - 3^{\circ} \text{ C}$) gelegen hatten, angestellt. Die Untersuchungen von Strichpräparaten aus dem ersten Kadaver, welcher 75 Tage gelegen hatte, ergaben keine bestimmten Resultate: in jedem Gesichtsfelde sah man mehrere undeutlich konturierte, blaßgefärbte Mikroben. In aus einem Bubo angelegten Kulturen konnte der Pestbacillus aus einem wenig verwesenen Kadaver noch nach 102 Tagen gezüchtet werden (Versuch 35). Nach 140 Tagen wuchs trotz nichtiger Zersetzungserscheinungen in Kulturen nichts (Versuch 37) und konnte der Pestbacillus nur durch Tierversuche ausfindig gemacht werden¹⁾.

Zum Schlusse will ich in Kürze in Betreff der Untersuchung von sehr spärliche Pestmikroben enthaltenden Kadavern berichten. In diesen Fällen kann die subkutane Infektion von Tieren ein negatives Resultat ergeben und hat sich in meinen Versuchen die intraperitoneale Infektion von Meerschweinchen mit einer aus dem zerriebenen Organ angefertigten Emulsion als die beste Methode erwiesen.

Um Organe mit spärlichem Mikrobengehalt zu erhalten, spritzte ich dem Tiere 12 Stunden vor Infektion desselben mit einer Pestkultur antipestöses Serum in einer Menge ein, welche dazu genügte, daß das Tier im Laufe mehrerer Tage die Infektion bewältigen könnte. 2 Tage nach vollführter Pestinfektion (mit einer geringen Menge Pestkultur) wurde das Tier getötet und einer seiner Bubonen, in welchem durch Kultur nur spärliche Mikroben (oder auch gar keine) ausfindig gemacht werden konnten, in physiologischer Kochsalzlösung verrieben und einem Meer-

1) Ziehen wir diese enorme Lebenszähigkeit der Pestbacillen in Betracht, so sind wir wohl kaum berechtigt, zu behaupten, daß, wenn es nicht gelingt, den Mikroben aus dem Kadaver zu züchten, es sich wirklich nicht um Pest handelt, sondern müssen uns vielmehr fragen, ob nicht vielmehr unsere Züchtungsmethoden unvollständig sind. Meine Versuche, in denen der Pestbacillus bei pernasaler Einverleibung von Kadavermaterial doch noch mit Erfolg isoliert werden konnte, berechtigen uns zu dieser letzteren Annahme und lassen hoffen, daß mit der Vervollständigung unserer Untersuchungsmethoden wir immer seltener Fiasko leiden werden. Jedenfalls sind wir, wie uns scheint, berechtigt in dem Falle, wo es uns mit unseren besten Methoden nicht gelingt, in Tierversuchen den Pestbacillus zu isolieren, zu behaupten, daß das untersuchte Material im Sinne der Pestinfektion keine Gefahr bietet.

schweinchchen intraperitoneal einverleibt. Das Tier ging nach 36 bis 48 Stunden unter für Pest charakteristischen Peritoniterscheinungen: bedeutende Injektion der Peritonealgefäße, trübe und fadenziehende Flüssigkeit im Peritoneum mit zahlreichen Pestmikroben, zu Grunde. Die subkutane Einverleibung dieser Emulsion aber tötet das Tier nicht jedes Mal. Bei minimalem Mikrobengehalt muß man also die intraperitoneale Methode benutzen, um rasche und sichere Ergebnisse zu zeitigen.

Auf Grund alles oben Angeführten und der vorstehenden Tabellen sehe ich mich zu folgenden Schlußfolgerungen berechtigt:

1) Will man am Kadaver die Pestinfektion bestimmen, so muß man zur direkten Infektion von Tieren mit dem zu untersuchenden Material, als der einzig sicheren Methode, greifen.

2) Als Infektionsobjekt sind Meerschweinchen am geeignetsten.

3) Die Infektionsmethode hat sich streng nach dem Grade der Zersetzung des Kadavers und (in frischen Kadavern) nach dem Mikrobengehalt zu richten.

4) Bei frischen oder wenig verwesenen Kadavern ist die intraperitoneale oder subkutane Einverleibung einer Emulsion des zu untersuchenden Materials vorzuziehen; in Fällen von geringem Mikrobengehalt ist die intraperitoneale Infektion ganz besonders allen übrigen Methoden vorzuziehen.

5) In verwesenen Kadavern, in denen jedoch die einzelnen inneren Organe noch wiederzuerkennen sind, haben als Untersuchungsobjekte vornehmlich Bubonen und Milz, d. h. diejenigen Organe, in welchen die Pestmikroben sich am längsten erhalten, zu dienen.

6) In stark verwesenen Kadavern, in welchen die einzelnen Organe nicht mehr voneinander zu unterscheiden sind, ergibt die pernasale Einverleibung von Kadaverstückchen bei Tieren oftmals vorzügliche Resultate und ist sie jedenfalls zu erproben. Außerdem ist es angezeigt, das Untersuchungsmaterial zum Gefrieren zu bringen und dann eine Emulsion desselben subkutan zu injizieren.

7) Je niedriger die Temperatur, bei welcher der Kadaver aufbewahrt wurde, desto länger kann man auf die Erhaltung der Lebensfähigkeit des Mikroben rechnen: bei $+30^{\circ} + 35^{\circ} \text{C}$ konnten Pestbacillen nicht später als am 5. Tage ausfindig gemacht werden, bei $+12^{\circ} + 14^{\circ} + 18^{\circ} \text{C}$ am 28., bei $+3^{\circ} + 4^{\circ} + 5^{\circ} \text{C}$ am 109. und endlich bei Gefriertemperatur bis zu 140 Tagen (wahrscheinlich wohl auch noch länger).

8) Die zur Erhaltung der Pestmikroben günstige Wirkung niederer Temperaturen kann durch unbeständige Temperaturen und rasche Uebergänge von niederen zu hohen Temperaturen oder umgekehrt ganz aufgehoben werden.

9) In einem Kadaver, welcher lange Zeit (über 4 Monate und mehr) gelegen hat, nimmt die Virulenz des Pestmikroben augenscheinlich um ein Mehrfaches ab.

10) Der Pestbacillus nimmt bei protrahierter Aufbewahrung des Kadavers (namentlich bei niedrigen Temperaturen) schon nach einigen Tagen Kokkenform an.

11) Am längsten erhält sich der Pestbacillus in seiner ursprünglichen Form in Bubonen, aus denen er noch nach sehr langen Zeiträumen (bis zu 102 Tagen im gefrorenen Kadaver) gezüchtet werden kann ¹⁾.

1) Meine Arbeit war bereits fast ganz beendet, als die Mitteilung von Maassen in den Arb. d. kais. Gesundheitsamtes, Bd. XIX. 1903. H. 3 erschien. Verf. hat fest-

Literatur.

1) Schulz, N., Centralbl. f. Bakt. etc. 1901. No. 5. — Müller und Pösch, Sata, Kolle und Bericht der Indian Plague Commission. 1898—1899. H. 5. London 1901. — 3) Martini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. H. 1. — 4) Kolle, Ebenda. 1901. p. 347. — 5) Skrziwan, Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. — 6) Vokote, Ebenda. 1898. p. 1030. — 7) Klein, Ebenda. 1899. No. 21/22. — 8) Sata, Arch. f. Hyg. 1901. p. 1—30. — 9) Bazaroff, La pneumonie pesteuse expérimentale. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. No. 5.) — 10) Hofmann, Lehrbuch d. gerichtl. Medizin. 1881.)

Nachdruck verboten.

Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des Bacillus von Eberth vom Colibacillus.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Bologna
(Direktor: Prof. Dr. G. Sanarelli).]

Von Dr. med. **Guido Q. Ruata**, Assistenten am Institute.

In einer kürzlich veröffentlichten Schrift¹⁾ schlägt S. Endo aus dem Privat-institute von Prof. Dr. S. Kitasato zu Tokio ein neues Verfahren vor, um zu einer schnellen differentiellen Diagnose zwischen dem Bacillus von Eberth und dem Coli-Bacillus zu gelangen. Endo teilt mit, daß er damit vorzügliche Ergebnisse erhalten habe. Ein Verfahren, welches in jedem Falle eine sichere Differenzierung zwischen diesen zwei Mikroben ermöglicht, aufzufinden, war und ist sehr verlockend, und unzählig sind bis auf heute die dazu vorgeschlagenen Methoden.

Das Verfahren von Endo besteht eigentlich aus einem Nährmittel mit Fuchsin, welches auf chemischem Wege entfärbt wurde und das durch die Stoffwechselprodukte des Coli-Bacillus die Farbe zurück-erhalten sollte, zum Unterschiede vom Bacillus von Eberth, dessen Produkte es ungefärbt lassen.

Es handelt sich also um ein Verfahren mit Färbungsreaktion, wovon wir schon so viele Beispiele haben; aber die Leichtigkeit, mit welcher, zum Unterschiede von vielen anderen Verfahren, man den Nährboden herstellen kann, die Geschwindigkeit und die Sicherheit, wodurch — nach Endo — sich die Differentialreaktion einstellt, würden

zustellen gesucht, wie lange Pestmikroben im Kadaver von Ratten und auf mit Ratten-exkrementen beschmutzten Cerealienkörnern leben können. Außerdem hat er die Bedingungen studiert, unter welchen Ratten bei Fütterung mit Pestmaterial infiziert werden können. Wurden die Kadaver bei 16—28° C auf Cerealienkörnern aufbewahrt, so konnten auf diesen noch nach 20 Tagen Pestmikroben konstatiert werden, bei 8° war dieses noch bis zum 93. Tage möglich. Bei Fütterung von Ratten mit dem Kadavermaterial konnte noch nach 24-tägigem Liegen des Kadavers bei 8° Pestinfektion hervorgerufen werden, bei 22° C aber war dieses nur im Laufe von 2 Tagen möglich. Verf. hält die Meerschweinchen für das beste Objekt, mit dessen Hilfe die Pestdiagnose gestellt werden kann. In gegen Austrocknen geschützten Exkrementen lebten die Mikroben bei 22° C 2 Tage und bei 8° C 4 Tage. Trockneten die Exkremente ein, so konnten Pestmikroben nur am anderen Tage konstatiert werden. Die Tiere wurden durch subkutane Injektion und Inunktion infiziert. Keine von diesen Methoden verdient nach den Befunden des Verf. bei Untersuchung von verwesenen Kadavern den Vorzug.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. 1903. No. 1.

unbestreitbar sehr bedeutende Vorteile darstellen. Ich habe es deswegen als zweckmäßig erachtet, dieses Verfahren in großem Umfange zu prüfen, um festzustellen, ob es bei praktischer Anwendung wirklich sichere und allen Anforderungen genügende Ergebnisse darbietet.

Ich teile hier kurz die vom Autor selbst gegebene Beschreibung nochmals mit:

„Zu 500 g zerhacktem Rindfleisch setzt man 1 l Wasser, 10 g Pepton, 5 g Kochsalz und 30 g Agar, man kocht und filtriert, neutralisiert und fügt nochmals 10 ccm einer 10-proz. Sodalösung hinzu, um zu alkalisieren. Dann kommen 10 g Milchzucker und 5 ccm Alkohol-fuchsinlösung dazu, wodurch das Nährmittel eine starke rote Färbung annimmt, welche erst bei Zusetzung von 25 ccm einer 10-proz. Natriumsulfitlösung verschwindet. Nachdem dieser Nährboden in Reagenzgläser (je 15 ccm) gefüllt worden ist, wird er 30 Minuten lang im Dampfapparate sterilisiert.

Um gute Ergebnisse zu erhalten, ist es notwendig, chemisch reine Ingredienzien zu verwenden, die Natriumsulfitlösung in einer gut geschlossenen Flasche aufzubewahren, die alkoholische Fuchsinlösung vorher zu filtrieren und den Nährboden im Dunkeln aufzubewahren.

Beim Gebrauche wird der Agar vermitteltst der Wärme verflüssigt und in sterilisierte Petrische Schalen gegossen und eine Zeitlang stehen gelassen, bis er erstarrt.

Nachdem das Material ausgesät worden ist (für den Kot werden Γ -förmige Glasstäbchen nach v. Drigalski angeraten), werden die Platten im Brütschranke bei 37° C aufgestellt. Schon nach 15 Stunden haben die Kolonien der Coli-Bakterien angefangen rot zu werden; nach 24 Stunden sind sie schon ganz rot und nehmen den dem Fuchsin eigentümlichen grünlichen Schimmer an; während dieser Frist bleiben die Kolonien des Bacillus von Eberth vollkommen farblos.

Was nun den Chemismus dieses Farbumschlages anbelangt, 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 Rosanilinsalzes wird durch Reduktionsmittel, wie Natriumsulfit, leicht reduziert; das dadurch entfärbte Rosanilin verbindet sich mit den durch das Coli-Bakterium produzierten Säuren und der Nährboden färbt sich schön rot.

Dieser Nährboden bietet folgende Vorzüge dar:

- 1) Die Zubereitung ist einfach und leicht.
- 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 Kolonien der Bacillen von Eberth farblos bleiben.⁴

Die eben beschriebene Zubereitung des Nährbodens ist leider von einigen Mängeln nicht frei.

Vor allem ist die Quantität von 5 ccm alkoholischer Fuchsinlösung zu groß; die Masse wird durch 2 ccm Fuchsinlösung mehr als genügend gefärbt. Und dies ist um so wichtiger, als die 25 ccm Natriumsulfitlösung, die von Endo angegeben werden, in Wirklichkeit sehr unter der verlangten Quantität stehen.

Ich habe schon verschiedene Male diesen Agar zubereitet, indem ich mich sehr reiner Ingredienzien bediente, wie Agar, Milchzucker von Merck, Natriumsulfit, Soda, Chlornatrium von Kahlbaum, Pepton von Witte, Fuchsin von Grübler, und kann sagen, daß 50 ccm 10-proz. Natriumsulfitlösung auf 1 ccm alkoholischer Fuchsinlösung, welche dem Agar beigemischt wird, kommen, welches Verhältnis für die von Endo verwendete Quantität Fuchsin eben 250 ccm Natriumsulfitlösung ergeben würde.

Auf den ersten Blick könnte dies vielleicht übermäßig erscheinen, ist aber im Gegenteil nur das gerade Notwendige. Man muß bedenken, daß Natriumsulfit ein sehr zersetzbares Salz ist, welches sich sehr leicht oxydiert, und daß die Wärme diesen Prozeß erleichtert; wenn man also, um das Fuchsin zu entfärben, eine kleine Quantität Natriumsulfit anwendet, wird sich unausbleiblich die Zersetzung des dank der Wärme und der folgenden Sterilisierung sich bildenden sulfit-fuchsinischen Stoffes einstellen und der Nährboden wird wieder rot werden. Diese Tatsache ist mir, so oft ich eine Quantität Sulfit anwenden wollte, welche kleiner war als die von mir angegebene und sich eben mehr der von Endo vorgeschriebenen nähert, immer begegnet.

Es ist also unumgänglich notwendig, Sulfit im Ueberschusse anzuwenden, damit, nachdem die Sterilisierung erfolgt ist, im Nährboden noch so viel davon übrig bleibt, um dasjenige, welches von der Wärme oxydiert worden ist, zu ersetzen, so daß der Boden farblos bleibt.

Die von mir jetzt erwähnte Widerwärtigkeit stellt sich nicht nur bei der Sterilisierung des Agars ein, sondern auch später: Wenn man die schon sterilisierten Röhrchen oder die Platten 24 Stunden hindurch im Thermostaten bei 37° hält, so wird man wahrnehmen können, daß der Agar mehr oder minder rot geworden ist und daß diese Färbung immer stärker wird, je mehr der Nährboden unter dieser Temperatur gehalten wird — aus dem nämlichen schon erwähnten Grunde der leichten Zersetzbarkeit der sulfit-fuchsinischen Verbindung.

Man kann somit zu ganz irrthümlichen Ergebnissen gelangen, besonders wenn das auf die Platten ausgesäte Material an Mikroben wenig reich ist. In diesem Falle können die spärlichen Kolonien des Coli-Bacillus oder des Bacillus von Eberth eine rosenrote Färbung darbieten, von der man wohl schwer sagen kann, ob sie zum Nährboden gehöre oder zu den Kolonien selbst. Dies ist auch bei wenig aktiven Coli-Bacillen, welche folglich den Nährboden sehr schwach röten, ein genügend häufiger Fall, bei welchem die schwache rote Färbung der Bakterien eben mit der roten Färbung des bei 37° verbliebenen Bodens verwechselt werden kann.

Wie es auch immer sein wöge, stellte ich den Nährboden in der angegebenen Weise dar, und da ich ein von verschiedenen Seiten erhaltenes, reiches Mikrobenmaterial, wie zahlreiche Bacillen von Eberth und Coli-Bacillen, zu meiner Verfügung hatte, so gebrauchte ich es zu den weitläufigsten Versuchen.

Die von mir verwendeten Mikroben sind folgende, wobei bemerkt sei, daß die Buchstaben und Nummern von mir nur deswegen beigelegt wurden, um die Bakterien schneller unterscheiden zu können:

a) Coli-Bacillen.

B. Aus dem diarrhäischen Kote eines Kaninchens isoliert. — D. Aus einer bakteriämischen Leiche isoliert. — K. Von Král erhalten.

— E. Aus München erhalten. — S. Aus dem Kote eines Dysenterischen abgesondert. — T. Aus einem Wasser isoliert. — W. Aus der Flüssigkeit einer Synovitis isoliert.

b) Bacillen von Eberth.

B. Ursprünglich, schon vor einigen Jahren, von Král eingesendet. — C. Id. und in der klinisch-medizinischen Anstalt zu Bologna verwendet. — D. Aus München erhalten. — K. Direkt von Král erhalten. — 1. aus dem Blute eines Typhuskranken abgesondert. — 2. Id. — 3. Id. — 4. Aus der Milz einer Typhusleiche abgesondert. — 5. Aus dem Blute eines Typhuskranken isoliert. — 6. Id. — 7. Id. — 8. Id. — 9. Id. — 10. Id. — 11. Id. — 12. Id. — 13. Id. — 14. Id. — 15. Aus der Milz einer Typhusleiche abgesondert. — 16. Aus dem Blute eines Typhuskranken isoliert. — 17. Id. — 18. Id. — 19. Id.

Alle diese Bacillen sind morphologisch und biologisch deutlich charakterisiert.

Ich säte Agar- oder Bouillonkulturen verschiedenen Alters dieser soeben beschriebenen Mikroben auf Fuchsinagarplatten verschiedenartig nebeneinander in dünnen Streifen aus, um auf derselben Platte Vergleiche anstellen zu können.

I.

1. Platte.

Sie ist mit parallelen Streifen folgender Coli-Bacillen besät worden: B, D, K. Ich gesellte ihnen auch einen aus dem diarrhöischen Kote eines an einer Inokulation des Bacillus von Eberth (K) eingegangenen Kaninchens zu; und hier sei bemerkt, daß der letztgenannte Bacillus vorher in eine Röhre mit schrägem Agar ausgesät worden war und dort den Agar in 8 Stunden sehr stark gerötet hatte (siehe VI. Beobachtung). Kulturen auf 24-stündigem Agar.

Nach 15 Stunden:

Bacterium coli Q: Keine Spur von Rötung auf dem Entwicklungstreifen: Kaum ein sehr leichter, wenig bemerklicher rosenroter Anflug, welcher mit der Färbung des Nährbodens zusammenfällt.

Coli-Bakterien S und D: Der Entwicklungstreifen ist deutlich rosenrot.

Coli-Bakterien K und B: Der Entwicklungstreifen ist leicht rosenrot.

Nach 20 Stunden:

Bacterium coli Q: Unverändert, mit Ausnahme einer Stelle, wo die Anhäufung des Materials stärker ist, ist auch die rosenrote Färbung greller.

Coli-Bakterien B, K, S, D: Der Entwicklungstreifen eines jeden Bakteriums ist deutlich und fast mit gleicher Stärke gerötet.

2. Platte.

Diese Platte wird mit parallelen Streifen von Coli Q und S, von Eberth D und mit einer Kultur von Eberth K besät, welche aus der Bauchfellflüssigkeit eines Kaninchens hergestellt wurde, aus welcher früher der Coli Q isoliert worden war; dieser Bacillus war früher auf schrägem Fuchsinagar ausgesät und nach 18 Stunden bot er eine rosenrote Färbung dar; ich nannte ihn Eberth K, (siehe Beobachtung VI), um ihn vom Eberth K zu unterscheiden, welcher nicht durch das Tier gewandert war. Kulturen auf 24-stündigem Agar.

Nach 15 Stunden:

Coli Q: Keine Rötung.

Coli S: Sehr starke Rötung.

Eberth D: Keine Rötung.

Eberth K₁: Keine Rötung.

Nach 20 Stunden:

Coli Q: Sehr deutlich rosenrot.

Coli S: Sehr starke Rötung.

Eberth D: Keine Rötung.

Eberth K₁: Keine Rötung.

Nach 48 Stunden:

Die vorhergehenden Zustände bleiben unverändert.

II.

1. Platte.

Mit parallelen Streifen folgender Bacillen von Eberth besät: 15, 16, 17, 18, 19 und des Coli-Bacillus S. Kulturen auf 24-stündigem Agar.

Nach 7 Stunden:

Coli S: Leichter rosenroter Anflug. Die Eberth haben sich entwickelt, aber ohne Rötung.

Nach 15 Stunden:

Coli S: Rosenrot.

Die Bacillen von Eberth weisen in den respektiven Entwicklungstreifen eine rote Färbung auf, welche weit stärker ist als die des Coli S.

Nach 24 Stunden:

Die Färbung der Entwicklungstreifen der Bacillen von Eberth ist stärker geworden und verbleibt viel stärker als die des Coli S.

2. Platte.

Sie wird mit parallelen Streifen der Coli-Bacillen A, F, S, T besät. Kulturen auf 12-tägigem Agar.

Nach 7 Stunden:

Coli S: Sehr stark gerötet.

„ T: Deutlich gerötet.

„ A: Leicht rosenrot angefliegen.

„ F: Kaum wahrnehmbarer rosenroter Anflug.

Nach 15 Stunden:

Alle Entwicklungstreifen sind gerötet.

Nach 24 Stunden:

Die Entwicklungstreifen weisen eine sehr starke rote Färbung auf, welche beim Coli S am stärksten ist.

3. Platte.

Wird mit parallelen Streifen von Coli E, W und Eberth 1, 2, 3, 4 besät. Kulturen auf 12-tägigem Agar.

Nach 7 Stunden:

Alle Streifen haben sich ohne irgend eine Färbung entwickelt.

Nach 15 Stunden:

Coli E: Deutliche Rötung.

„ W: Leicht rosenrot.

Eberth 1, 2: Keine Färbung.

„ 3, 4: Leicht rosenrot, besonders gegen die beiden Enden der Streifen zu, wo die größte Masse Materials angesammelt ist.

Nach 24 Stunden:

Coli E: Stark gerötet.

„ W: Deutlich rosenrot.

Eberth 1, 2: Keine Färbung.

„ 3, 4: Rosenrote, an den Enden stärker markierte Färbung.

4. Platte.

Wird mit parallelen Streifen folgender Bacillen von Eberth besät: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11. Kulturen auf 12-tägigem Agar.

Nach 7 Stunden:

Alle Streifen haben sich entwickelt. Eberth 5, 7, 8, 11: Eine deutliche rosenrote Färbung längs des Streifens, besonders an den Enden, wo das ausgesäte Material reichlicher ist. Eberth 6, 9, 10: Keine Färbung.

Nach 15 Stunden:

Eberth 6, 9, 10, 11: Deutliche Rötung.

„ 7, 8: Deutliche, an den Enden mehr hervortretende, rosenrote Färbung.

„ 5: Leicht gerötet.

Nach 24 Stunden:

Die bei vorhergehender Beobachtung beschriebenen Färbungszustände sind deutlicher hervorgetreten, obgleich jeder Streifen den anderen gegenüber die verhältnismäßige Stärke beibehalten hat.

5. Platte.

Wird mit parallelen Streifen folgender Coli-Bacillen besät: B, D, E, K, Q, S. Kulturen auf 8-tägigem Agar.

Nach 7 Stunden:

Coli S: Rosenrot.

Die anderen haben sich entwickelt, aber ohne irgend eine Färbung.

Nach 15 Stunden:

Alle Streifen sind der Stärke nach in folgender Ordnung gerötet: B, K, D, S, E, Q.

Nach 24 Stunden:

Alle Streifen sind stark gerötet.

III.

1. Platte.

Mit Bacillus von Eberth 17 besät. Kultur in 48-stündiger Bouillon.

Nach 7 Stunden:

Der Streifen hat sich ohne Rötung entwickelt.

Nach 18 Stunden:

Der Entwicklungstreifen weist eine deutliche rosenrote Färbung auf.

Nach 24 Stunden:

Der Streifen weist eine deutliche, an den Enden mehr hervortretende rote Färbung auf.

2. Platte.

Mit parallelen Streifen von Bacillen von Eberth besät: 17 und 19. Kulturen in 48-stündiger Bouillon.

Nach 7 Stunden:

Die Streifen haben sich ohne Rötung entwickelt.

Nach 18 Stunden:

Auf den Platten ist ein rosenroter Anflug erschienen, welcher mit der Rötung des Nährbodens verschwimmt.

Nach 24 Stunden:

Die Streifen sind rot gefärbt; an den Enden, wo die größte Anhäufung des Materials ist, ist die Färbung markierter.

3. Platte.

Wird mit parallelen Streifen folgender Bacillen von Eberth besät: 15, 16, 17, 18, 19.

Nach 7 Stunden:

Alle Streifen haben sich entwickelt, aber ohne irgend eine Färbung.

Nach 18 Stunden:

Eberth 15: Keine Färbung.

" 16, 18, 19: Die Streifen sind deutlich rosenrot, an den Enden, wo die größte Quantität Materials angehäuft ist, stärker markiert.

Eberth 17: Nur die Enden sind rosenrot.

Nach 24 Stunden:

Eberth 15: Leicht rosenrot angeflogen.

" 16, 18, 19: Deutlich gerötet.

" 17: Der Streifen weist eine an den Enden stärkere rosenrote Färbung auf.

IV.

1. Platte.

Eine Oese Coli-Bacillus S (Kultur auf 24-stündigem Agar) und eine Oese Bacillus von Eberth K (Kultur auf 24-stündigem Agar) werden in 20 ccm destillierten und sterilisierten Wassers aufgelöst, wovon 1 ccm gleichförmig auf die Platte aufgestrichen wird.

Nach 18 Stunden:

Der Nährboden hat eine hervortretende rosenrote Färbung. Hier und da sind einige sehr kleine Kolonien erschienen; man kann nicht unterscheiden, ob sie selbst rosenrot gefärbt sind oder ob die rosenrote Färbung jene des Bodens sei.

Nach 30 Stunden:

Andere kleine Kolonien sind erschienen; sie weisen eine leichte rosenrote Färbung auf, welche mit derjenigen des Bodens zusammenfällt. Verschiedene dieser Kolonien werden in die gewöhnlichen Nährmittel ausgesät und man weist nach, daß sie entweder vom Coli-Bacillus oder vom Bacillus von Eberth stammen.

2. Platte.

Eine Oese Bouillonkultur des Coli-Bacillus Q und eine Oese Bouillonkultur des Bacillus von Eberth 15 werden mit 10 ccm destillierten und sterilisierten Wassers vermischt und 1 ccm wird gleichförmig auf die Platte gestrichen.

Nach 20 Stunden:

Einige kleine, auf dem rosenroten Nährboden kaum unterscheidbare Kolonien sind erschienen.

Nach 30 Stunden:

Die Kolonien sind zahlreicher: einige scheinen stärker rosenrot gefärbt zu sein und bei Aussaat in die gewöhnlichen Nährmittel identifizieren sie sich als Coli-Bacillen. Aber auch einige der farblosen Kolonien werden als Coli-Bacillen identifiziert.

Nach 40 Stunden:

Einige Kolonien weisen eine hervortretende rosenrote Färbung auf; andere sind ebenfalls rosenrot, aber weniger deutlich; andere nicht stärker rosenrot als das Nährmittel.

Von allen drei Varietäten werden zahlreiche Aussaaten in die gewöhnlichen Nährmittel bewerkstelligt und bei allen dreien kann man den Coli-Bacillus von Eberth nachweisen.

V.

Anstatt der Platten habe ich Röhren des nämlichen Agars verwendet, aber fest in Flötenschnabelform, und in jede Röhre wurde eine mikrobiische Art ausgesät.

In ebensovielen Röhren werden folgende, aus Kulturen von 24-stündigem Agar stammende Mikroben ausgesät:

Bacillus von Eberth: K, C, D, 15, 19.

Coli-Bacillen: B, D, E, K, S.

Werden im Thermostaten bei 37° gehalten.

Nach 10 Stunden:

Coli S. Hat den ganzen Entwicklungstreifen gerötet und zwar mehr gegen die obere Extremität des Nährbodens, wo dieser dünner ist und gegen den Boden zu abnimmt. Die Masse des Agars ist durch große Gasblasen zerrissen.

Die Coli-Bacillen B, D, K weisen keine Rötung auf; der Agar ist mit Gasblasen durchbrochen.

Der Coli E weist an einigen Stellen eine leichte Rötung auf. Der Agar ist von Gasblasen durchbrochen.

Die Bacillen von Eberth haben sich entwickelt, aber ohne Rötung und ohne Gasblasen.

Nach 15 Stunden:

Coli S: Stark rot.

„ E: Hervortretend rot.

„ K: Leicht gerötet.

„ D: Leicht rosenrot.

„ B: Einige leicht rosenrote Stellen.

Die Bacillen von Eberth weisen keine Rötung auf.

Nach 24 Stunden:

Die Färbungen der verschiedenen Coli-Bacillen sind respektiv stärker geworden. Der Eberth 15 weist eine leichte rosenrote Färbung auf, welche an Stärke derjenigen des Coli B gleichkommt.

Die anderen Bacillen von Eberth sind nicht gerötet.

Nach 48 Stunden:

Die Färbung der Coli-Bacillen tritt immer stärker hervor mit Ausnahme des Coli B, welcher eine rosenrote Färbung beibehält und an Stärke derjenigen von Eberth 15 gleichkommt.

Die anderen Bacillen von Eberth weisen keine Rötung auf.

VI.

Gleichzeitig mit diesen Beobachtungen wurde auf drei Meerschweinchen A, B, C eine Eberthsche Infektion vermittelt einer endoperitonealen Impfung von Kulturen des Bacillus von Eberth K bewerkstelligt.

Als die Tiere eingegangen waren, säte man direkt auf Fuchsinagar das peritoneale Exsudat und den diarrhöischen Inhalt des Darmes mittels \neg -förmiger Glasstäbchen nach v. Drigalski.

Das nämliche Material wurde auch auf gewöhnliche Nährmittel ausgesät, um die Identifizierung der sich etwa entwickelnden Mikroben zu kontrollieren.

1. Platte.

Wird mit einem Streifen peritonealen Exsudates und mit einem Streifen diarrhöischer Flüssigkeit des Meerschweinchens A besät.

Nach 10 Stunden:

Aus dem Streifen diarrhöischen Materials haben sich zahlreiche ineinander über-

gehende gerötete Kolonien entwickelt. Aus dem Streifen des Bauchfellexsudates haben sich zahlreiche ineinander übergehende, schön rosenrot gefärbte Kolonien entwickelt.

Nach 20 Stunden:

Die von diarrhöischem Materiale herstammenden Kolonien haben eine starke rote Färbung angenommen.

Die Kolonien des Bauchfellmaterials weisen eine hervortretende rote Färbung auf, welche aber weniger stark ist als die der vorigen.

Nach 30 Stunden:

Alle Kolonien sind stärker gefärbt, obgleich der schon wahrgenommene verhältnismäßige Unterschied in der Stärke der Färbung beibehalten wird.

Mit denselben Materialien wurden auch zahlreiche Röhren mit schrägem Fuchsinagar besät: Die Ergebnisse entsprechen denjenigen, welche soeben für die Platte angegeben wurden.

Aus dem in verschiedene andere Nährmittel ausgesäten Darmkanalinhalte habe ich in reiner Kultur einen Coli-Bacillus erhalten, den ich Coli Q benannt habe: Von ihm habe ich schon in den vorhergehenden Beobachtungen gesprochen, denn es ist eben der nämliche, der nach der ersten Umzüchtung die Fähigkeit, den Nährboden zu färben, in sehr beschränktem Maße darbot (siehe Beobachtung I). Aus dem Bauchfellexsudate hat sich hingegen in reiner Kultur ein Bacillus von Eberth entwickelt, welchen ich Eberth K₁ benannt habe, wovon ebenfalls bei Beobachtung I die Rede ist.

2. Platte.

Wird mit einem Streifen Bauchfellexsudates und mit dem diarrhöischen Darmkanalinhalte des Meerschweinchens B besät.

Nach 10 Stunden:

Aus den beiden Streifen haben sich verschiedene rosenrote Kolonien entwickelt; die vom Bauchfellexsudate herstammenden haben eine ein wenig lichtere Färbung.

Nach 20 Stunden:

Beide Streifen weisen eine lichtrote Färbung auf, welche für die Darmkanalinhaltskolonien stärker ist.

Nach 30 Stunden:

Alle Kolonien sind hochrot gefärbt ohne irgend einen schätzbaren Unterschied in der Stärke der Färbung.

Diese Resultate boten in den Röhren mit schrägem Agar, worin beide Materialien ausgesät worden waren, keine Varianten dar. Was die Erzeugung von Gas anbelangt, so wiesen einige mit diarrhöischem Materiale besäte Röhren ein von Gasblasen durchbrochenes Nährmittel auf, was bei denen, die mit Bauchfellflüssigkeit besät worden waren, nicht der Fall war.

Auf anderen Nährmitteln hat sich aus dem Bauchfellexsudate der Bacillus von Eberth in reiner Kultur, und aus dem Darmkanalinhalte ein Coli-Bacillus, ebenfalls in reiner Kultur, ergeben.

3. Platte.

Wird mit einem Streifen Bauchfellexsudates und mit einem Streifen diarrhöischen Darmkanalinhaltes des Meerschweinchens C besät.

Nach 10 Stunden:

Aus den beiden Streifen haben sich einige farblose Kolonien entwickelt.

Jene, welche sich aus dem Streifen diarrhöischen Materials entwickelt haben, weisen eine leichte rosenrote Färbung auf.

Nach 30 Stunden:

Die vom Exsudate herstammenden Kolonien weisen einen leichten rosenroten Anflug auf, welcher sich sehr leicht mit der Färbung des Bodens verliert.

Die vom diarrhöischen Materiale herstammenden Kolonien sind deutlich gerötet.

Aehnliche Resultate ergeben sich auch in den Röhren mit schrägem Fuchsinagar; jene, in welche Darmmaterial ausgesät wurde, zeigen Gasblasen, die den Nährboden durchbrechen.

Was die anderen Nährmittel anbelangt, so kann man wahrnehmen, daß aus dem Bauchfellexsudate sich der Bacillus von Eberth in reiner Kultur entwickelt hat: Aus der diarrhöischen Flüssigkeit ist in stark überwiegender Anzahl gegen einen Coccus, von dem wenige Kolonien erschienen sind, ein Coli-Bacillus gezüchtet worden.

Somit scheint es mir wohl überflüssig, diese Beobachtungen durch eine lange Besprechung noch zu erörtern. Sie dienen zum Beweise, daß sowohl der Bacillus von Eberth als der Coli-Bacillus mehr oder weniger den Nährboden röten, oder daß sie ihn gar nicht röten, je nach der Varietät und Herkunft eines jeden Individuums, je nach dem Nährmittel, in welchem sie gezüchtet werden, dem Alter der Kulturen, der Quantität des ausgesäten Materials etc.

Alle diese Koeffizienten wirken dahin, daß, wenn man beide Mikroben, um sie zu differenzieren, einander gegenüberstellt, man mit größter Leichtigkeit in Irrtum verfallen kann, wenn man die Diagnose ausschließlich auf das unbeständige Kriterium der roten Färbung des Coli-Bacillus und der Nichtfärbung des Bacillus von Eberth gründet, wie Endo behauptet.

Wenn man anstatt der Platten Agarröhren verwendet, kann man auf den Weg zur Diagnose gelenkt werden, wenn man die Erscheinung der Gasblasen in Rechnung zieht, welche sich beim Coli-Bacillus fast immer einstellen, aber nicht beim Bacillus von Eberth. Aber es ist auch augenscheinlich, daß diese Richtschnur nur dann ihre Geltung hat, wenn man sicher sein kann, in jede Röhre nur einen der beiden Mikroben ausgesät zu haben und nicht beide zusammen, wie es bei Aussaat von Kotmaterialien sehr leicht vorkommt, ausgenommen der Fall, daß man sich eben bei diesem letzten Falle darauf beschränke, auf Grund der Blasen das Vorhandensein des Coli-Bacillus zu bestätigen, ohne das gleichzeitige Dasein des Bacillus von Eberth auszuschließen, was gewiß zu keiner Diagnose führt.

Dieses subsidiarische Kriterium endlich hat weder mit dem von Endo vorgeschlagenen Verfahren, noch mit seiner mehr oder minder gewissen Sicherheit etwas gemein, denn dieses letztere ist nicht etwa auf das Phänomen der Erscheinung von Gasblasen gegründet, sondern auf die Färbung des Nährmittels.

Die von mir angegebenen Unannehmlichkeiten, d. h. die leichte Zersetzbarkeit des Nährbodens, welche ihren Grund in der Unbeständigkeit der vom Fuchsin mit dem Natriumsulfit gebildeten Verbindung findet, und die Ungewißheit der Färbungsreaktion lassen also dahin schließen, daß das Verfahren von Endo vom Gesichtspunkte der Differentialdiagnose nur einen sehr relativen Wert hat, welcher gewiß nicht bedeutender ist als derjenige der zahlreichen Verfärbungsprozesse mit gefärbter Reaktion, die bis heute vorgeschlagen wurden.

(Ins Deutsche übertragen von Ing. O. v. Negri.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im fließenden Moldauwasser im Weichbilde und im Leitungswasser von Prag.

Von Prof. Dr. **B. v. Jaksch** und Dr. **B. Rau**.

Mit 1 Plan im Text.

Seit Jahren ist der Typhus abdominalis in Prag endemisch seit Jahren folgen Perioden, in welchen Typhuserkrankungen mehr iso-

liert vorkommen, solche, in welchen explosionsartig der Typhus im Laufe weniger Tage in der ganzen Stadt verbreitet erscheint.

In einer solchen Periode steht Prag wieder seit dem Frühjahr dieses Jahres.

Während die einzelnen nur wenig gruppierten Fälle, welche jahraus jahrein hier vorkommen, wohl durch mehr lokale Verhältnisse, z. B. vereinzelte verseuchte Brunnen oder ungünstige hygienische Situation der Gebäude, wie z. B. die derzeit bestehende Endemie von Typhuserkrankungen in der neu erbauten Findelanstalt ihre Erklärung finden, fordert dieses explosionsartige Auftreten in der ganzen Stadt zu Untersuchungen heraus, wodurch dieses Auftreten des Typhus wohl bedingt sein könne.

Es liegt am nächsten, daran zu denken, daß verseuchtes typhusbacillenhaltiges Wasser durch die städtische Wasserversorgung in die Wohnungen geleitet wird und dadurch, auch wenn solches Wasser nicht direkt getrunken, sondern zu verschiedenen häuslichen Zwecken, z. B. Abwaschen der Gemüse (Salate), Auswaschen der Gläser in Gastwirtschaften etc. verwendet wird, der Ausbruch einer solchen Epidemie hervorgerufen werden kann.

Es lag deshalb nahe, Wasser aus der Prager städtischen Wasserleitung und aus der Moldau auf die Anwesenheit von eventuellen Typhusbacillen zu untersuchen.

Bis in die neueste Zeit hatten mangels einer entsprechenden Methode alle derartigen Bemühungen in meiner Klinik keinen Erfolg.

Als nun im Januar dieses Jahres aus dem Rubnerschen Institute eine neue Methode zur Untersuchung des Wassers auf Typhusbacillen von Hoffmann¹⁾ und Ficker beschrieben wurde, beschloß ich, angesichts der oben angeführten Ueberlegung, das Prager Wasser mittels dieser Methode auf die Anwesenheit von Typhusbacillen zu untersuchen.

Die Untersuchungen wurden über meinen Auftrag von Dr. Rau in dem bakteriologischen Laboratorium meiner Klinik durchgeführt und die Resultate derselben fortlaufend von mir und Dr. Hoke nachgeprüft und kontrolliert.

Ich bin deshalb in der Lage, für die Richtigkeit und Genauigkeit der nachstehend angeführten Untersuchungen eintreten zu können.

Die Methode von Hoffmann und Ficker besteht im wesentlichen darin, daß das zu untersuchende Wasserquantum (900 ccm) durch Zusatz von 10 g Nutrose im 80 ccm Wasser in eine Nährflüssigkeit umgewandelt wird, während ein Zusatz von 5 g Koffein in 20 ccm Wasser und 10 ccm einer Lösung von 0,1 g Kristallviolett (Höchst) in 100 ccm Wasser das Wachstum der begleitenden Bakterien möglichst einschränken soll. Die Methode wurde zunächst in folgender Weise auf ihre Brauchbarkeit zu solchen Zwecken geprüft:

Es wurde steriles Wasser, Quantum je 900 ccm, mit je einer Reinkultur von je einer Oese *Bacterium coli* (A), *Vibrio Elvers* (B) und *Bacillus typhi* (C) infiziert und nach Hinzufügen der oben angeführten Substanzen (Nutrose, Koffein, Kristallviolett) diese 3 Kolben 13 Stunden bei Bruttemperatur belassen, wie es von Hoffmann und Ficker verlangt wird. Vorher wurden die mit den oben erwähnten Mikroorganismen beschickten Nährlösungen vor dem Einsetzen in den Brutschrank durch die Plattenzählmethode auf ihren Keimgehalt geprüft.

1) Hoffmann und Ficker, Hygienische Rundschau. Bd. XIV. 1904. Heft 5.

A ergab 576 Keime (*Bacterium coli*),
 B " 2848 " (*Vibrio Elvers*),
 C " 928 " (*Bacillus typhi*).

Nach 13 Stunden ergab:

A fast unendliches Wachstum (*Bacterium coli*),
 B steril (*Vibro Elvers*),
 C unendliches Wachstum (*Bacillus typhi*).

Dieser Vorversuch zeigte die Brauchbarkeit der Methode.

Wir gehen zur Beschreibung der entscheidenden Versuche über:

Versuch I. Am 31. März wurde im Zimmer No. 21 des Kaiser Franz Joseph-Pavillon, dem bakteriologischen Laboratorium der Klinik, einem vollständig aseptischen Raume, von 4–5 Uhr nachmittags der Hahn der einen neben dem Fenster situirten Wasserleitung ganz geöffnet und am Schlusse der Stunde Wasser in der Menge von 900 ccm in einem sterilen Kolben aufgefangen. Es wird bemerkt, daß dieses Wasser so schmutzig war, daß es vor Zusatz der Nährlösungen durch ein steriles Filtrierpapier filtrirt werden mußte.

Es wurde der in oben beschriebener Weise beschickte Kolben 13 Stunden im Brutschrank bei 37° C belassen. Nach dieser Zeit wurden v. Drigalski-Conradi-Platten durch die Poliermethode mit der Kolbenflüssigkeit beschickt.

Auf diesen Platten zeigte sich nach 24 Stunden (bei 37° C Temperatur gehalten) üppiges Wachstum, und zwar einzelne rötliche Kolonien, aber die Mehrzahl derselben hatte die blaue Farbe des Nährbodens nicht verändert. Nach diesem Verhalten mußte man eine Reihe der die Farbe des Nährbodens nicht verändernden Kolonien als typhusverdächtig bezeichnen. Von 2 solchen Kolonien wurde auf Bouillon überimpft, nach 24 Stunden waren beide Bouillonflüssigkeiten diffus getrübt, im hängenden Tropfen der Bouillonkulturen fanden sich zahlreiche ungemein bewegliche Bacillen in Reinkultur. Diese Reinkulturen sind die als Stamm Ia und b (Leitung) weiter untersuchten Kulturen. Es zeigte bei wiederholten Untersuchungen Stamm Ia und b (Leitung) folgendes Verhalten:

- 1) im hängenden Tropfen: rasch bewegliche Bacillen;
- 2) Gelatinekultur: Gelatine nicht verflüssigend;
- 3) Agarstrichkultur: sowohl Oberflächen- als Tiefenwachstum, daher fakultativ aërob;
- 4) Milch: auch nach 3-tägigem Stehen bei 37° C keine Gerinnung;
- 5) Traubenzuckeragar: keine Gasentwicklung;
- 6) Neutralrotagar: nicht entfärbt;
- 7) Petruschkysche Lackmusmolke: keine Säurebildung;
- 8) Indolreaktion in 10-tägiger Bouillonkultur: negativ;
- 9) v. Drigalski-Conradi-Platten: zarte bläuliche Kolonien;
- 10) Endo-Platten, zarte, den Nährboden nicht entfärbende Kolonien;

11) Agglutination: Wird Stamm Ia und b mit hochwertigem Kaninchenimmenserum zusammengebracht, so sieht man makroskopisch nach 2 Stunden im Brutkasten (37° C) belassen, Auftreten von Flockenbildung bis zu einer Verdünnung von 1:10000. Eine weitere Ausfällung des Serums wurde nicht vorgenommen.

Es soll noch erwähnt werden, daß diese Bacillen nicht grambeständig waren.

Diese Untersuchung ergab demnach, daß sich die Mikroorganismen

in jeder Beziehung (s. die Tabelle) als Typhusbacillen erwiesen. Es wird bemerkt, daß Stamm Ia (Leitung) ungemein virulent für Tiere war, indem eine Oese einer 12-stündigen Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, das Tier in 4 Stunden tötete, aus dem peritonealen Exsudate, Milz, Leber, Herzblut gehen auf schiefem Agar reichliche Typhuskolonien auf. Dieser Versuch ergibt, daß die aus dem Leitungswasser gezüchteten Typhusbacillen für Meerschweinchen enorm virulent waren.

Die Tierversuche, welche zu dem Zwecke mit den auf Agar überimpften Kulturen aus Stamm Ia ausgeführt wurden, um Tiere mit dem Stamme zu immunisieren, ergaben, daß derselbe auch für Kaninchen ungemein virulent war, indem die nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 60° C aus einer ganzen Agarkultur dem Tiere intravenös injizierten Bacillen dasselbe schwer machten. Die Immunisierung diente dem Zwecke, um nachzuweisen, ob ihr Serum imstande ist, andere sichere Typhusstämmen zu agglutinieren und die Probe nach Ficker zu geben.

Diese Versuche ergaben folgende Resultate:

Ein großes Kaninchen (1), 2050 g schwer, wird am 5. Mai mit einer Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und eine halbe Stunde auf 60° C erhitzt, intravenös injiziert, am 13. Mai (1980 g) ebenfalls Injektion wie am 5. Mai. Das Tier wird am 17. Mai verblutet, das Gewicht des lebenden Tieres an diesem Tage beträgt 2000 g.

Das Serum dieses Tieres agglutiniert in einer Verdünnung von 1:1000 und 1:5000 bei 27° C nach $\frac{1}{2}$ Stunde sichere Typhusbacillensämme, nicht agglutiniert wurden bei diesen Verdünnungen 2 Paratyphusstämmen des Laboratoriums und ein Coli-Stamm, das Serum zeigt die Fickersche Probe in den gleichen Verdünnungen (bei 37° C) nach $\frac{1}{2}$ Stunde.

In Bezug auf den Pfeifferschen Versuch ergab sich, daß das Serum des Tieres (1) noch in einer Verdünnung 1:100 ein Meerschweinchen vor Typhusbacillen schützt, während das Kontrolltier nach 1 Stunde zahllose Bacillen in der Bauchhöhle beherbergt und nach 16 Stunden verendet. Weiter aber wurde der Stamm Ia (Leitung) mit dem Serum einer Typhuskranken auf seine Agglutinationsfähigkeit geprüft. Es ergab sich, daß das Blutserum einer Frau, die Typhus überstanden hatte und deren Blut Typhusbacillen enthalten hatte, welches seinerzeit die Fickersche Probe ergab, andererseits authentische Typhusstämmen unseres Laboratoriums agglutinierte, die Bacillen des Stammes Ia (Leitung) noch in einer Verdünnung von 1:100 sofort typisch bei Zimmertemperatur agglutinierte.

Dieser Versuch I ergibt leider mit absoluter Gewißheit, daß das Prager Leitungswasser in der Zeit von 5 Uhr nachmittags des 31. März, welches dem Kaiser Franz Joseph-Pavillon zugeführt wurde, für den tierischen Organismus virulente Typhusbacillen enthielt.

Versuch II. Moldauwasser, entnommen bei Branik in der Mitte des Stromes, gegenüber dem Bräuhaus am 12. April 1904 um 3 Uhr nachmittags.

Die Untersuchung, genau in der oben angeführten Weise ausgeführt, ergab, daß dieses Wasser keine Typhusbacillen enthielt, da-

gegen den *Bacillus pyocyaneus*, der bei diesem Verfahren im Gegensatz zu anderen Bacillen nicht unterdrückt wird, ferner wahrscheinlich *Proteus*-Arten, doch wurden diese Mikroorganismen nicht weiter verfolgt.

Versuch III. Moldauwasser, zwischen Wyschehrad und Smichow aus der Mitte des Flusses entnommen am 13. April 1904 um 3 Uhr (s. Plan \blacklozenge III).

Das Resultat war positiv, d. h. das Moldauwasser zwischen Wyschehrad und Smichow führte am 13. April Typhusbacillen. Die Untersuchung wurde in genau derselben Weise wie bei I durchgeführt (s. Tabelle). Auch in diesem Versuche wurde der *Pyocyaneus* nicht unterdrückt. In Bezug auf die Virulenz ergab sich genau dasselbe Resultat wie bei Stamm Ia. Auch mit diesem Stamm (Wyschehrad) wurde ein Kaninchen (2) 2530 g schwer am 5. Mai, ferner am 13. Mai (2500 g) immunisiert, Gewicht vor der Verblutung am 17. Mai 2510 g. Das Verhalten des Serums war genau das gleiche wie das des Serums von Kaninchen 1, auch der Pfeiffersche Versuch verlief in gleicher Weise (s. Tabelle).

Ebenso wie Stamm Ia verhielt sich auch dieser Stamm (Wyschehrad) in Bezug auf das Verhalten gegen Blutserum eines Individuums, das Typhus überstanden hatte. Der Verlauf des Phänomens gestaltete sich genau wie bei Stamm Ia (Leitung). Desgleichen wurde mit hochwertigem Kaninchenimmenserum dasselbe Verhalten beobachtet wie bei den Stämmen Ia und b, also Auftreten von Flockenbildung bis zu einer Verdünnung von 1:10000 etc. (s. Tabelle).

Versuch IV. Moldauwasser, entnommen am unteren Ende der Sophieninsel am 18. April 1904 um 3 Uhr nachmittags (s. Plan \blacklozenge IV).

Der Versuch, in genau derselben Weise ausgeführt wie I und III, ergab genau das gleiche Resultat, d. h. auch dieses Moldauwasser führte Typhusbacillen. In Bezug auf die Virulenz ergab sich genau das gleiche Resultat wie bei Stamm Ia Leitung und Stamm Wyschehrad. Auch mit diesem Stamme Sophieninsel wurde ein Kaninchen (3) 2520 g schwer am 5. Mai, ferner am 13. Mai (2510 g) immunisiert. Gewicht vor der Verblutung am 17. Mai: 2500 g. Das Verhalten des Serums war das gleiche wie das von Kaninchen 1 und 2, auch der Pfeiffersche verlief in gleicher Weise.

Ebenso wie Ia (Leitung) und III (Wyschehrad) verhielt sich auch dieser Stamm (Sophieninsel) gegen das Serum von Individuen, die Typhus überstanden hatten, d. h. es trat das Agglutinationsphänomen bei einer Verdünnung von 1:100 sofort auf. Desgleichen zeigte er das identische Verhalten gegen hochwertiges Kaninchenimmenserum wie Stamm Ia und b und Stamm III Wyschehrad (s. Tabelle).

Versuch V. Moldauwasser, entnommen am 20. April 1904 bei der Hetzinselüberfuhr um 3 Uhr (s. Plan \blacksquare V).

Das Resultat war negativ, es wuchs *Pyocyaneus*. Dieses Wasser enthielt keine Typhusbacillen.

Versuch VI. Moldauwasser, entnommen den 21. April 1904 am unteren Ende von Karolinenthal um 4 $\frac{1}{2}$ Uhr (s. Plan \blacksquare VI).

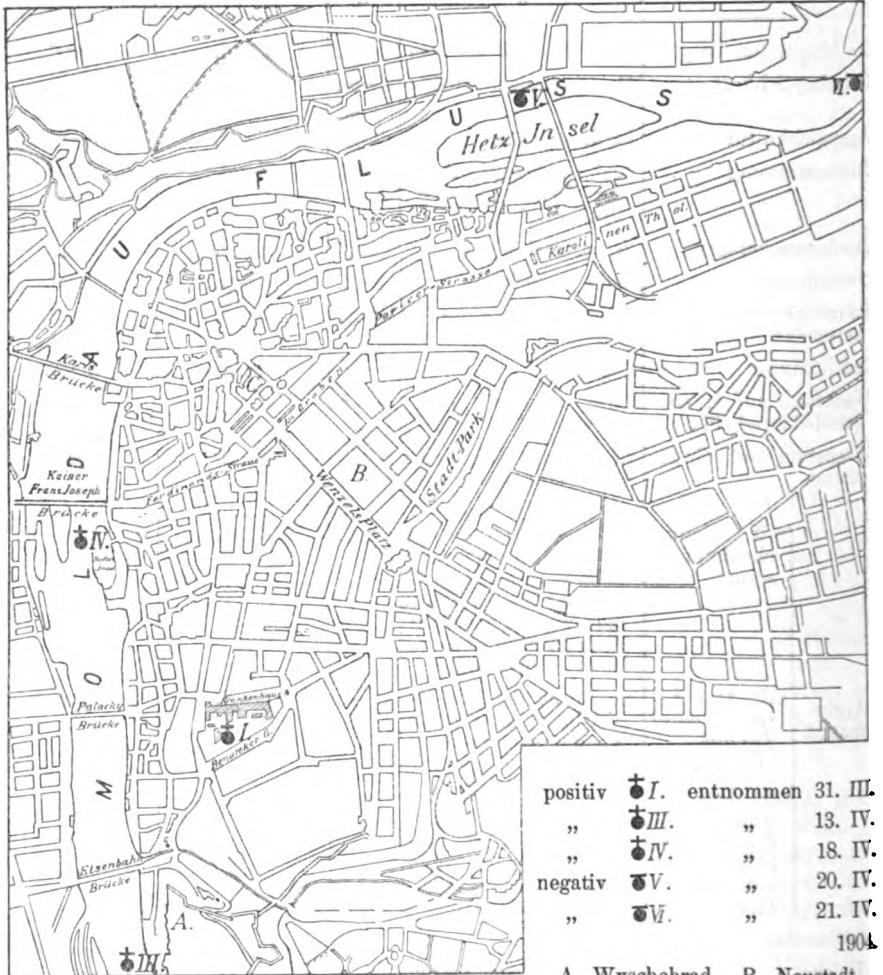
Resultat wie V, also das Wasser enthielt keine Typhusbacillen. Diese beiden Proben (V und VI) wurden wegen der schmutzigen Beschaffenheit des Wassers unter den vorher angegebenen Kautelen filtriert.

Ich lasse zunächst eine tabellarische Zusammenstellung der positiven Versuche folgen, welche zeigen, daß in der Tat die Kulturen alle gegen-

Wasserproben	Stamm No. I (Leitungswasser) Wasserprobe No. I entnommen der Wasserleitung im Kaiser Franz Joseph-Pavillon, Zimmer No. 21, den 31. März 1904 (vergl. Plan)		Stamm No. III (Wyschehrad) Wasserprobe No. III den 13. April 1904 aus der Moldau entnommen (vergl. Plan)	Stamm No. IV (Sophieninsel) Wasserprobe No. IV den 18. April 1904 aus der Moldau entnommen (vergl. Plan)
	a	b		
Im hängenden Tropfen	rasch bewegl. Bacillen	desgl.	desgl.	desgl.
Gelatinestichkultur	Gelatine nicht verflüssigend	desgl.	desgl.	desgl.
Agarstichkultur	fakultativ ärob	desgl.	desgl.	desgl.
Milchgerinnung	nach mehreren Tagen bei Bruttemperatur keine Gerinnung	desgl.	desgl.	desgl.
Traubenzuckeragar	keine Gasbildung	desgl.	desgl.	desgl.
Neutralrotagar	nicht entfärbt	desgl.	desgl.	desgl.
Petruschkysche Lackmusmolke	keine Säurebildung	desgl.	desgl.	desgl.
Indolbildung	negativ	desgl.	desgl.	desgl.
Wachstum auf v. Drigalski-Conradi-Platten	zarte bläuliche Kolonien	desgl.	desgl.	desgl.
Wachstum auf Endoplatten	zarte, den Nährboden nicht entfärbende Kolonien	desgl.	desgl.	desgl.
Agglutination	(mit Kaninchenimmuns serum)	Makroskopisch nach 2 Std. Bruttemperatur vollkommene Agglutination bis 1:10000, eine weitere Austitrierung des Serums wurde nicht vorgenommen	desgl.	desgl.
	(mit dem Serum eines Typhuskranken)	agglutiniert noch bei der Verdünnung 1:100 bei Zimmertemperatur	—	desgl.
	(mit dem Serum mit Stamm Ia, III, IV immunisierter Tiere)	agglutiniert sichere Typhusstämme bis 1:5000 agglutiniert nicht Paratyphusstämme, nicht Coli, gibt die Fickersche Probe	—	desgl.
Pfeifferscher Versuch	positiv	—	desgl.	desgl.
Virulenz	Eine Oese einer 12-stündigen Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, tötete dasselbe nach 4 Std., aus dem Blut von Milz, Leber, Lunge und Herz gingen auf schiefem Agar zahlreiche Typhuskolonien auf	—	desgl.	desgl.

wärtig bekannten charakteristischen Eigenschaften der Typhusbacillen aufweisen.

Ferner füge ich bei einen Situationsplan von Prag mit den eingezeichneten positiven und negativen Befunden, nur Versuch II ist darin nicht verzeichnet, weil das Wasser der Moldau aufwärts außerhalb der Grenzen des Situationsplanes entnommen wurde.



In Bezug auf die Methode ist folgendes zu bemerken: Zahlreiche in früheren Jahren in meiner Klinik mit anderen Methoden ausgeführten Versuche die bakteriologische Fauna des Prager Leitungswassers zu studieren oder gar Typhusbacillen aus dem Wasser zu isolieren, scheiterten an dem Umstande, daß zu wenig der so zahlreichen Keime durch diese Methoden unterdrückt wurden. Da nach unseren Versuchen mittels dem Vorgehen von Hoffmann und Ficker fast alle anderen Bakterien zurückgedrängt wurden, während nur der Bacillus

pyocyaneus und wohl auch Coli-Arten, wie das Erscheinen der den Nährboden von v. Drigalski-Conradi rotfärbenden Kulturen beweist, ferner vielleicht spärlich Proteus-Arten sich entwickelten, so bedeutet dieses Vorgehen einen wesentlichen Fortschritt für die Untersuchung typhusverdächtiger Wässer. Auch der Umstand, daß 3 Versuche positiv, 3 negativ ausfielen, spricht für die Güte der Methode.

Ob vielleicht noch bessere Resultate zu erreichen wären durch den Nachweis von Typhusbacillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat nach Ficker¹⁾, dies noch zu prüfen hatten wir keine Veranlassung, da unsere Versuche I, III und IV mit der Methode Hoffmann-Ficker ganz eindeutig positiv ausfielen. Doch soll auf dieses Vorgehen bei ferneren systematischen Untersuchungen des Prager Wassers, welche jetzt nicht mehr ausbleiben können, aufmerksam gemacht werden.

Fassen wir die Resultate unserer Untersuchungen zusammen, so hat sich ergeben, daß in der Zeit vom 31. März bis 18. April 1904 in 3 Proben des Prager Wassers verschiedener Provenienz für den Tierkörper virulente Typhusbacillen gefunden wurden, daß insbesondere die Strecke der Moldau vom Wyschehrad bis zur Sophieninsel, ferner das Prager Leitungswasser sich mit Typhusbacillen infiziert erwies, während oberhalb Prag bei Branik und unterhalb Prag schon bei der Hetzinsel im Moldauwasser keine Typhusbacillen nachgewiesen werden konnten.

Daraus ergibt sich zunächst, daß diese Typhusbacillen nicht aus der Beraun, an deren Ufern seit Beginn des Jahres Typhus herrschte, stammen konnten, daß weiter nur in dem engeren Weichbilde der Stadt (Wyschehrad-Sophieninsel) (s. den Plan) das Wasser als mit Typhusbacillen verseucht befunden wurde; ob nicht auch unterhalb der Sophieninsel auf der Strecke Sophieninsel-Hetzinsel (s. Plan) das Moldauwasser Typhusbacillen enthielt, ist nicht untersucht worden und sollte gewiß Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, zu welchen im Interesse der ganzen Bevölkerung diese Beobachtungen gebieterisch auffordern.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich mit absoluter Sicherheit, daß es sich nur um Typhusbacillen gehandelt hat.

Ihr Verhalten gegen die bekannten Nährböden, gegen Kaninchen- und Menschenimmenserum, ferner die Fähigkeit des Serums mit diesen Stämmen (Leitung, Wyschehrad, Sophieninsel) immunisierter Tiere authentische Typhusbacillen in hohen Verdünnungen zu agglutinieren, Paratyphus- und Coli-Stämme nicht zu agglutinieren, andererseits auch die Fickersche Probe, ferner den Pfeifferschen Immunitätsversuch zu geben, erweisen dies und ist demnach nach unseren heutigen Kenntnissen eine Verwechslung mit anderen, dem Typhusbacillus nahestehenden Mikroorganismen als Coli, Paratyphus, absolut ausgeschlossen. Damit ist der strikte Beweis geliefert, daß das Prager Wasser der genannten Herkunft (Leitung, Wyschehrad, Sophieninsel) in der Zeit vom 31. März bis 18. April 1904 für den tierischen Organismus virulente Typhusbacillen enthalten hat.

1) Ficker, Hygienische Rundschau. Bd. XV. 1904. Heft 7.

Shiga¹⁾, Brieger et Mayer²⁾, Macfadyen et Rowland³⁾ (qui, avec des milieux de culture très spéciaux, n'ont pas réussi à constater une toxine soluble), enfin un élève de Chantemesse, Balthazard⁴⁾.

Dès le début de ses recherches, l'un de nous s'est classé parmi les partisans de la toxine typhique soluble, ayant reconnu que, dans une culture en bouillon, les produits dissous ne sont pas inertes, comme on l'avait pensé, mais nettement doués de propriétés spécifiques: non seulement ils sont agglutininogènes, mais ils sont éminemment favorisés à l'égard du pouvoir infectant des bacilles vivants, et ils sont même doués de propriétés toxiques⁵⁾.

Il avait cherché à augmenter le rendement toxique au moyen de milieux de culture spéciaux⁶⁾. Des bouillies de viande ou de rate, soumises à un certain degré de putréfaction, avaient parfois donné des cultures remarquablement toxiques; mais l'inconstance et l'irrégularité des résultats, les difficultés que nous avons rencontrées à régler l'obtention de produits toxiques dans ces conditions, nous ont fait abandonner cette méthode.

D'autre part, dans l'hypothèse où ce serait surtout dans le milieu organique que le bacille d'Eberth élaborerait sa toxine, nous avons songé à la chercher, soit dans le sang, les épanchements ou les viscères (foie) des animaux infectés, soit dans des cultures faites *in vitro* dans des fragments de foie frais emprunté à des sujets sains. Quelques expériences que nous avons faites sur ce sujet ne nous ayant pas révélé, dans ces diverses conditions, de produits particulièrement actifs, nous avons abandonné cette voie.

Revenant à la recherche de la toxine dans les cultures, et laissant les milieux spéciaux pour le simple bouillon de viande, nous nous sommes appliqués à déterminer les conditions les plus favorables à la production de la toxine dans ce milieu. Nos expériences ont abouti, par l'étude comparative des produits solubles et des corps bacillaires, par l'étude de la marche du pouvoir toxique dans les cultures, à la conviction qu'il s'agit vraiment d'une sécrétion toxique, d'une toxine soluble, d'une toxine proprement dite.

II. Toxicité des cultures filtrées.

Des cultures de bacille d'Eberth (bacille dont la virulence est entretenue par des réensemencements fréquents et par des passages

1) Neisser et Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 4. p. 61—62; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 1.)

2) Brieger et Mayer, Dtsche med. Wochenschr. 1903. Avr.; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 9.

3) Macfadyen et Rowland, Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 53; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 6; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 618 et 765.)

4) Balthazard, Toxine et antitoxine typhiques. Thèse de Paris. 1903.

5) Rodet, Sur les propriétés toxiques des cultures des bacilles d'Eberth et coli: toxicité comparée des produits solubles et des corps bacillaires. (Soc. de biol. 1898. 9 juil.) — Sur les propriétés favorisantes des produits solubles du bacille d'Eberth et du bacille coli. (Ibid. 9 juin.)

6) Rodet, Recherches des conditions qui influent sur le pouvoir infectant et la toxicité des cultures des bacilles d'Eberth et coli. (Soc. de biol. Volume jubilaire. 1899.)

dans le péritoine du cobaye) étant faites dans les conditions propices que nous allons dire, et prises à un âge convenable, il est facile de reconnaître que ces cultures, filtrées sur bougie Chamberland, sont toxiques, en les injectant dans le péritoine du cobaye, mieux encore dans les veines du cobaye ou du lapin. Il faut donner des doses relativement fortes; mais, aux mêmes doses, le bouillon servant aux cultures n'est pas toxique. Quoique les cultures filtrées soient bien plus toxiques par la voie veineuse que par la voie péritonéale, nous avons surtout eu recours à l'injection intrapéritonéale, parce qu'elle se prête mieux à l'étude comparative de la toxicité des cultures filtrées et des corps bacillaires.

Les cobayes qui reçoivent une dose suffisante de toxine suffisamment active meurent dans les premières vingt-quatre heures, quelquefois en moins de quinze heures, après avoir présenté les troubles suivants: forte chute de la température (au dessous de 35°), prostration, hérississement des poils, cris plaintifs, abdomen augmenté de volume et sensible à la pression. A l'autopsie: péritoine et viscères abdominaux congestionnés; peu de réaction péritonéale, épanchement clair. Avec des doses moindres, on observe une première phase d'hypothermie, suivie d'hyperthermie, l'animal pouvant mourir au bout de quelques jours, ou survivre, dans les deux cas après avoir présenté une perte de poids considérable ($\frac{1}{5}$, $\frac{1}{4}$ de son poids, quelquefois davantage).

La condition la plus importante, pour mettre en évidence la toxicité des cultures filtrées du bacille d'Eberth, concerne l'âge des cultures. Il est de toute nécessité d'agir avec des cultures jeunes. Tout le monde sait que le maximum du pouvoir infectant d'une culture de ce bacille est précoce; le maximum du pouvoir toxique est presque aussi précoce. La toxicité s'affaiblit par un vieillissement même très modéré des cultures.

Pour obtenir un bon rendement toxique, il faut réunir les conditions qui assurent une pullulation rapide et abondante des bacilles; les cultures doivent être aussi riches que possible: plus la richesse en bacilles sera grande et précoce, plus la toxicité sera elle-même précoce et plus elle aura de chances d'être élevée. Il faut encore que les conditions réalisées assurent aux bacilles le maximum de vitalité et d'actif fonctionnement. Les bouillons doivent être riches (nous employons du bouillon de bœuf à 2 p. 100 de peptone de Witte), très notablement alcalins [teinte rosée légère à la phtaléine¹⁾]. Toutes choses égales d'ailleurs, les faibles volumes de bouillon conviennent mieux que les grandes quantités.

Une condition importante est relative à l'aération des cultures. Une bonne aération, en favorisant et hâtant la pullulation des bacilles, sans doute aussi en stimulant leur fonctionnement, favorise l'élaboration du principe toxique; cette condition importe d'autant plus que la quantité du bouillon est plus grande.

Dans le cas de culture largement aérée, c'est-à-dire faite dans du bouillon très étalé en couche mince (60 cm en fiole de Gayon), le pouvoir toxique est très précoce. Souvent, dans ces conditions, c'est après 3 jours d'étuve que nous observons le maximum ou un premier maximum; à partir du jour où la toxicité a cessé de croître, elle décroît rapidement, dès les jours suivants; elle peut alors toutefois présenter

1) L'alcalinité est surtout nécessaire pour les bacilles ayant subi un certain nombre de passages dans l'organisme du cobaye.

Shiga¹⁾, Brieger et Mayer²⁾, Macfadyen et Rowland³⁾ (qui, avec des milieux de culture très spéciaux, n'ont pas réussi à constater une toxine soluble), enfin un élève de Chantemesse, Balthazard⁴⁾.

Dès le début de ses recherches, l'un de nous s'est classé parmi les partisans de la toxine typhique soluble, ayant reconnu que, dans une culture en bouillon, les produits dissous ne sont pas inertes, comme on l'avait pensé, mais nettement doués de propriétés spécifiques: non seulement ils sont agglutininogènes, mais ils sont éminemment favorisants à l'égard du pouvoir infectant des bacilles vivants, et ils sont même doués de propriétés toxiques⁵⁾.

Il avait cherché à augmenter le rendement toxique au moyen de milieux de culture spéciaux⁶⁾. Des bouillies de viande ou de rate, soumises à un certain degré de putréfaction, avaient parfois donné des cultures remarquablement toxiques; mais l'inconstance et l'irrégularité des résultats, les difficultés que nous avons rencontrées à régler l'obtention de produits toxiques dans ces conditions, nous ont fait abandonner cette méthode.

D'autre part, dans l'hypothèse où ce serait surtout dans le milieu organique que le bacille d'Eberth élaborerait sa toxine, nous avons songé à la chercher, soit dans le sang, les épanchements ou les viscères (foie) des animaux infectés, soit dans des cultures faites *in vitro* dans des fragments de foie frais emprunté à des sujets sains. Quelques expériences que nous avons faites sur ce sujet ne nous ayant pas révélé, dans ces diverses conditions, de produits particulièrement actifs, nous avons abandonné cette voie.

Revenant à la recherche de la toxine dans les cultures, et laissant les milieux spéciaux pour le simple bouillon de viande, nous nous sommes appliqués à déterminer les conditions les plus favorables à la production de la toxine dans ce milieu. Nos expériences ont abouti, par l'étude comparative des produits solubles et des corps bacillaires, par l'étude de la marche du pouvoir toxique dans les cultures, à la conviction qu'il s'agit vraiment d'une sécrétion toxique, d'une toxine soluble, d'une toxine proprement dite.

II. Toxicité des cultures filtrées.

Des cultures de bacille d'Eberth (bacille dont la virulence est entretenue par des réensemencements fréquents et par des passages

1) Neisser et Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 4. p. 61—62; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 1.)

2) Brieger et Mayer, Dtsche med. Wochenschr. 1903. Avr.; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 9.

3) Macfadyen et Rowland, Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 53; Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. Fasc. 6; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 618 et 765.)

4) Balthazard, Toxine et antitoxine typhiques. Thèse de Paris. 1903.

5) Rodet, Sur les propriétés toxiques des cultures des bacilles d'Eberth et coli: toxicité comparée des produits solubles et des corps bacillaires. (Soc. de biol. 1898. 9 juil.) — Sur les propriétés favorisantes des produits solubles du bacille d'Eberth et du bacille coli. (Ibid. 9 juin.)

6) Rodet, Recherches des conditions qui influent sur le pouvoir infectant et la toxicité des cultures des bacilles d'Eberth et coli. (Soc. de biol. Volume jubilaire. 1899.)

dans le péritoine du cobaye) étant faites dans les conditions propices que nous allons dire, et prises à un âge convenable, il est facile de reconnaître que ces cultures, filtrées sur bougie Chamberland, sont toxiques, en les injectant dans le péritoine du cobaye, mieux encore dans les veines du cobaye ou du lapin. Il faut donner des doses relativement fortes; mais, aux mêmes doses, le bouillon servant aux cultures n'est pas toxique. Quoique les cultures filtrées soient bien plus toxiques par la voie veineuse que par la voie péritonéale, nous avons surtout eu recours à l'injection intrapéritonéale, parce qu'elle se prête mieux à l'étude comparative de la toxicité des cultures filtrées et des corps bacillaires.

Les cobayes qui reçoivent une dose suffisante de toxine suffisamment active meurent dans les premières vingt-quatre heures, quelquefois en moins de quinze heures, après avoir présenté les troubles suivants: forte chute de la température (au dessous de 35°), prostration, hérissé-ment des poils, cris plaintifs, abdomen augmenté de volume et sensible à la pression. A l'autopsie: péritoine et viscères abdominaux congestionnés; peu de réaction péritonéale, épanchement clair. Avec des doses moindres, on observe une première phase d'hypothermie, suivie d'hyperthermie, l'animal pouvant mourir au bout de quelques jours, ou survivre, dans les deux cas après avoir présenté une perte de poids considérable ($\frac{1}{5}$, $\frac{1}{4}$ de son poids, quelquefois davantage).

La condition la plus importante, pour mettre en évidence la toxicité des cultures filtrées du bacille d'Eberth, concerne l'âge des cultures. Il est de toute nécessité d'agir avec des cultures jeunes. Tout le monde sait que le maximum du pouvoir infectant d'une culture de ce bacille est précoce; le maximum du pouvoir toxique est presque aussi précoce. La toxicité s'affaiblit par un vieillissement même très modéré des cultures.

Pour obtenir un bon rendement toxique, il faut réunir les conditions qui assurent une pullulation rapide et abondante des bacilles; les cultures doivent être aussi riches que possible: plus la richesse en bacilles sera grande et précoce, plus la toxicité sera elle-même précoce et plus elle aura de chances d'être élevée. Il faut encore que les conditions réalisées assurent aux bacilles le maximum de vitalité et d'actif fonctionnement. Les bouillons doivent être riches (nous employons du bouillon de bœuf à 2 p. 100 de peptone de Witte), très notablement alcalins [teinte rosée légère à la phtaléine¹⁾]. Toutes choses égales d'ailleurs, les faibles volumes de bouillon conviennent mieux que les grandes quantités.

Une condition importante est relative à l'aération des cultures. Une bonne aération, en favorisant et hâtant la pullulation des bacilles, sans doute aussi en stimulant leur fonctionnement, favorise l'élaboration du principe toxique; cette condition importe d'autant plus que la quantité du bouillon est plus grande.

Dans le cas de culture largement aérée, c'est-à-dire faite dans du bouillon très étalé en couche mince (60 ccm en fiole de Gayon), le pouvoir toxique est très précoce. Souvent, dans ces conditions, c'est après 3 jours d'étuve que nous observons le maximum ou un premier maximum; à partir du jour où la toxicité a cessé de croître, elle décroît rapidement, dès les jours suivants; elle peut alors toutefois présenter

1) L'alcalinité est surtout nécessaire pour les bacilles ayant subi un certain nombre de passages dans l'organisme du cobaye.

quelques oscillations, c'est-à-dire une réascension succédant à une chute, notamment vers le 10^e jour.

Dans les cultures à petite surface d'aération (tubes à essai aux $\frac{3}{4}$ pleins, petits ballons remplis jusqu'au bas du col), l'élévation du pouvoir toxique est moins rapide. Cependant, tout en s'élevant moins vite, elle peut atteindre (pourvu que la surface ne soit pas trop petite par rapport à la masse du liquide) un degré à peu près aussi élevé que dans les cultures à grande surface.

Dans l'hypothèse où il pourrait être avantageux, pour le rendement toxique, de modérer l'action de l'air à partir d'un certain moment de l'évolution d'une culture, nous avons fait des expériences consistant à placer une couche d'huile de vaseline stérilisée sur le bouillon de culture à des moments divers, et à voir l'influence de cette couche isolante sur le rendement toxique. Nous avons ainsi constaté qu'une couche isolante est manifestement nuisible à la production de la toxicité, mais favorable dans une certaine mesure à sa conservation, quoique insuffisante à l'assurer. Placée sur le bouillon dès le début de la culture, ou dans le courant de la phase ascendante de la toxicité, elle est nettement nuisible au rendement toxique. Si elle intervient plus tard, lorsque la toxicité est établie, elle donne des résultats un peu disparates qui s'expliquent par la coexistence des deux influences antagonistes: mais nous n'avons pas eu la preuve qu'on pût faire réellement prédominer l'influence utile, au point d'avoir un bénéfice réel. Par le retard qu'elle apporte à la chute de la toxicité, la couche isolante peut procurer une culture qui, à un certain âge, sera plus toxique qu'une culture non isolée, prise au même âge; mais c'est là un bénéfice tout relatif. C'est surtout pour les cultures à grande surface que la couche isolante ne nous a paru avoir que des inconvénients: l'espoir que nous avions conçu d'améliorer réellement le rendement toxique en soumettant d'abord une culture à de bonnes conditions d'aération (large surface), et en la recouvrant d'une couche protectrice à l'âge de 3 jours, dans le but d'accentuer la toxicité en protégeant la toxine formée, s'est trouvé déçu.

Même la restriction secondaire de l'aération, au 3^e jour, par la réduction de la surface, s'est montrée défavorable.

Par contre, un courant d'air permanent, entretenu par une aspiration, dans des cultures à grande surface, s'est montré susceptible d'améliorer le rendement toxique.

L'abaissement du pouvoir toxique, qui succède rapidement à la phase ascendante, est indépendant de la présence des bacilles; il n'est pas dû à une action secondaire de ces derniers: on l'observe au moins aussi accentué dans le liquide d'une culture que l'on prive de bacilles au 3^e jour. La présence des bacilles vivants, loin d'être la cause de cette chute de toxicité, contribue à la modérer, sans doute en compensant dans une certaine mesure la perte graduelle de la toxine par l'addition de toxine nouvelle.

La chute du pouvoir toxique n'est pas due non plus à ce que le principe toxique serait volatil. Elle résulte d'une altération de ce principe toxique. L'air concourt à cette altération; cependant, une couche isolante, placée sur une culture filtrée, ne suffit pas à l'empêcher.

Il faut donc compter, dans une culture qui évolue, sur deux facteurs: l'élaboration plus ou moins active, l'altérabilité de la toxine dissoute.

En somme, on peut constater que les cultures filtrées du bacille

d'Eberth sont toxiques, pourvu qu'on réalise pour ces cultures certaines conditions requises, et qu'on les prenne à un moment propice: la constatation du pouvoir toxique dépend étroitement de l'âge auquel on éprouve les cultures.

Même dans les meilleures conditions, la toxicité n'est jamais très forte. Dans l'état actuel de nos expériences, les meilleurs produits que nous obtenions doivent être donnés au cobaye dans le péritoine, à une dose équivalente à au moins 4 p. 100 du poids du sujet; rarement ils sont mortels à dose moindre. Par injection intraveineuse, la dose mortelle est bien moins élevée, et, du moins pour le lapin, s'abaisse au dessous de 1 p. 100.

Vraisemblablement, l'altération de la toxine dissoute, au fur et à mesure que de nouvelles doses s'ajoutent, s'oppose à ce qu'on puisse saisir à un moment quelconque la totalité de la toxine produite.

La substance qui donne aux cultures filtrées leur toxicité est précipitable par l'alcool, et assez sensible à la chaleur modérée (rapidement altérée par la température de 58°, ou par celle de 52° prolongée pendant quelques heures). Par son insolubilité dans l'alcool, par sa sensibilité à la chaleur, elle se rapproche des toxines proprement dites.

III. Toxicité des corps bacillaires.

Les cultures filtrées sont peu toxiques; les corps bacillaires le sont-ils davantage? Nombre d'auteurs se sont occupés de la toxicité des corps bacillaires; mais il ne semble pas qu'elle ait été étudiée dans de bonnes conditions de comparaison avec les produits solubles.

Nous avons recherché le pouvoir toxique des corps bacillaires morts et des cultures filtrées à dose correspondante. Etant donnée une culture en bouillon à un certain âge, filtrons cette culture, et voyons quelle est la toxicité, d'une part d'une quantité déterminée du liquide, d'autre part des bacilles provenant du même volume de la culture. La culture étant filtrée, les corps bacillaires sont repris à la surface de la bougie, après avoir été lavés avec une certaine quantité d'eau stérilisée, et émulsionnés dans de l'eau salée; cette émulsion est additionnée de thymol, dont on prolonge l'action quelques heures jusqu'à la mort des bacilles. Après décantation de la couche de thymol qui surnage, l'émulsion bacillaire est de nouveau filtrée sur bougie, soumise encore à la surface de celle-ci à un lavage avec de l'eau stérilisée pour entraîner les dernières traces de thymol. Les corps bacillaires sont remis en émulsion dans de l'eau salée; et cette émulsion est injectée à des cobayes, dans le péritoine, comparativement avec la culture filtrée, à des doses telles que les sujets reçoivent, par rapport à leur poids, d'une part les produits dissous, d'autre part les corps bacillaires morts d'un même volume de culture.

Le premier enseignement des expériences que nous avons faites suivant ce principe, c'est que les corps bacillaires sont toxiques; et les troubles qu'ils déterminent ont beaucoup d'analogie avec les effets des cultures filtrées. Cependant les lésions sont un peu différentes: la réaction péritonéale est plus marquée, comme si l'action toxique des corps bacillaires, tout en étant due en partie à la même substance que celle des cultures filtrées, s'exerçait par un mécanisme plus complexe.

La seconde constatation est que cette toxicité des corps bacillaires a une valeur variable, presque aussi variable que celle du liquide. A la même dose, ils peuvent être très actifs ou inactifs, suivant l'âge des

cultures; des corps bacillaires d'une culture de 24 heures ne sont pas toxiques, ou le sont beaucoup moins qu'ils ne le seront plus tard, quoiqu'ils soient au point culminant de leur pullulation. La substance toxique n'est donc pas un élément constitutif nécessaire des cellules bacillaires; celles-ci en présentent une charge très variable.

En ce qui concerne la comparaison avec les produits dissous, les corps bacillaires sont généralement moins toxiques que les cultures filtrées. Dans quelques cas, ils ont présenté une toxicité égale ou quelque peu supérieure; mais jamais ils n'ont été trouvés beaucoup plus toxiques que le liquide, tandis que souvent le liquide est bien plus toxique que les corps bacillaires; et, lorsque s'observe l'égalité ou une légère supériorité des corps bacillaires, c'est que les produits solubles sont de médiocre qualité.

Par conséquent, il y a presque toujours plus de toxine dans le liquide que sur les corps bacillaires; s'il y en a peu dans le liquide, il y en a généralement moins encore dans les corps bacillaires.

Lorsque la culture filtrée est particulièrement peu toxique, ce n'est pas parce que la toxine est restée fixée en plus forte proportion sur les corps bacillaires, pas plus qu'une activité particulièrement grande du liquide ne résulte de ce que les bacilles ont perdu davantage leur charge de toxine. C'est la somme du pouvoir toxique des bacilles et du liquide, c'est-à-dire la quantité totale de toxine élaborée dans les cultures, qui est variable, et non pas seulement la répartition de la toxine entre les corps bacillaires et le liquide ambiant. Et, lorsque des conditions, relatives à l'aération notamment, influencent dans une large mesure la toxicité des cultures filtrées, ce n'est pas en déterminant une plus ou moins grande rétention sur les bacilles, ou au contraire une plus ou moins grande issue; leur influence porte, non sur la répartition, mais sur l'élaboration de la toxine¹⁾.

IV. La toxine est-elle versée dans le milieu ambiant par les bacilles vivants ou morts?

Nous arrivons à la question fondamentale: le bacille d'Eberth élabore-t-il une toxine soluble, à l'instar du bacille de la diphtérie? ou s'agit-il d'une endotoxine?

Tout d'abord, nos expériences démontrent, après bien d'autres, la réalité, en un sens, de la toxine intracellulaire. Les bacilles vivants

1) Lorsque, pour étudier les propriétés toxiques du bacille d'Eberth, on expérimente avec les cultures complètes (cultures en bouillon injectées telles quelles, après avoir subi seulement l'action de la chaleur ou d'un antiseptique pour tuer les bacilles), comme l'ont fait nombre d'expérimentateurs, il faut compter, d'après tout ce qui vient d'être dit, avec la toxicité des corps bacillaires et avec celle des produits dissous. Mais, nous ne croyons pas que les effets toxiques que l'on constate alors soient simplement la somme des effets du liquide et de ceux des bacilles: les observations que nous avons faites sur ce sujet nous paraissent démontrer qu'il y a, non pas seulement addition, mais multiplication d'effets toxiques: la toxicité d'une culture complète n'équivaut pas à la somme de la toxicité de chacun des composants, elle lui est supérieure. Vraisemblablement, cela tient à ce que les corps bacillaires et les produits solubles n'exercent pas leurs effets toxiques exactement par le même mécanisme: les effets des corps bacillaires doivent être plus complexes; et il peut se faire que l'action de la toxine dissoute soit favorisée, par suite exagérée, par celle des produits différents contenus dans les corps bacillaires. Peut-être aussi cela résulte-t-il de ce que, lors de la séparation, par filtration sur bougie, des produits solubles et des corps bacillaires, une partie de la toxine est retenue par le filtre, d'où une perte en toxine dissoute, ce qui n'est pas lorsqu'on emploie la culture complète.

d'une culture sont vecteurs de toxine. Celle-ci se répartit d'une façon variable suivant les conditions et l'âge des cultures; mais, en somme, une partie, et une partie notable, se trouve fixée sur les corps bacillaires, adhérente, sinon incorporée à eux. C'est déjà précisément une question de savoir s'il ne s'agit pas d'une simple adhérence de toxine dissoute; admettons cependant, pour ne pas compliquer le problème, jusqu'à ce que de nouvelles expériences nous aient appris quelle est l'influence d'un lavage prolongé sur la toxicité des corps bacillaires, que cette toxicité leur appartient bien en propre. Il en résulte qu'une partie au moins de la toxine est intracellulaire, si l'on entend par là qu'elle est incorporée aux bacilles ou fixée sur eux. Ce qui est certain cependant, c'est que cette substance toxique n'est pas un élément nécessaire de leur constitution. Nous avons vu en effet que la quantité de toxine dont ils sont porteurs est très variable, qu'ils peuvent même en être dépourvus ou du moins ne pas manifester de pouvoir toxique à une dose où dans d'autres circonstances ils sont toxiques; c'est ainsi que des bacilles très jeunes nous ont paru être dénués de pouvoir toxique ou beaucoup moins toxiques qu'ils ne le deviennent à une phase plus avancée de leur évolution. La toxine que nous constatons sur les corps bacillaires nous apparaît donc, non comme un élément essentiel et nécessaire de leur composition, mais comme un élément surajouté ou de surcroît, dont les cellules bactériennes conservent une charge plus ou moins forte au fur et à mesure qu'elles l'élaborent.

D'autre part, si nous trouvons de la toxicité aux corps bacillaires, nous en trouvons aussi au liquide; et même, à en juger par le degré du pouvoir toxique, la quantité de toxine paraît être presque toujours plus forte dans le liquide ambiant que dans les corps bacillaires. La question est de savoir si le principe toxique, vraiment retenu par les cellules bactériennes, ne diffuse pas dans le milieu ambiant tant que les bacilles sont vivants, et exige, pour passer dans ce milieu, qu'ils se désagrègent ou tout au moins s'altèrent, ou bien si le principe toxique élaboré par les bacilles est versé dans le liquide au fur et à mesure de son élaboration: en d'autres termes, la diffusion de la toxine, dont nous constatons la présence parmi les produits dissous, est-elle consécutive à la mort des bacilles ou contemporaine de leur vie et de leur activité? s'agit-il d'un processus cadavérique, ou d'un phénomène vital, comparable à une sécrétion ou à une excrétion?

Dans l'hypothèse de l'endotoxine, nous devrions constater que la présence de la toxine dans le liquide est toujours consécutive à la mort des bacilles ou d'une partie d'entre eux; que les conditions qui favorisent la mort de ceux-ci, après avoir permis ou facilité leur pullulation, sont favorables à la toxicité du liquide; et que, inversement, celles qui maintiennent la vitalité des bacilles doivent donner des produits de filtration moins toxiques. Or, des déterminations numériques concernant la marche de la pullulation et de la mort des bacilles, en rapport avec les conditions (surface d'aération, courant d'air) qui d'autre part influencent la toxicité des cultures filtrées, nous ont appris que le pouvoir toxique du liquide, loin de marcher de pair avec la mort des bacilles, est bien plutôt en rapport avec leur abondante pullulation et leur actif fonctionnement. D'autre part, dans la thèse de l'endotoxine, nous devrions constater dans tous les cas une phase de la culture dans laquelle les corps bacillaires seraient plus toxiques que les cultures filtrées. Ce n'est pas ce que nous avons observé; à moins de supposer

que nous avons laissé échapper une phase extrêmement courte et fugace, la diffusion de la toxine dans le milieu ambiant nous a paru être contemporaine de sa formation, et cette diffusion est accentuée par des conditions (courant d'air) qui activent le fonctionnement des bacilles sans hâter leur mort.

En d'autres termes, les faits que nous avons observés concernant la marche de la toxicité des produits solubles, en rapport avec les conditions de culture, et surtout ceux qui concernent la toxicité comparée des corps bacillaires et des produits solubles nous paraissent s'accorder très difficilement avec l'hypothèse de la toxine intracellulaire versée dans le liquide seulement après la mort des bacilles, et au contraire cadrer très bien avec l'hypothèse de la toxine-sécrétion, c'est-à-dire de la toxine versée dans le milieu ambiant par les bacilles vivants par un acte vital de sécrétion ou d'excrétion.

Comme contrôle de cette conclusion déduite de l'ensemble de nos observations, nous avons fait quelques expériences dans le but de rechercher directement si les bacilles morts peuvent livrer de la toxine au milieu ambiant, et lesquels, des bacilles morts ou vivants, sont le plus capables de lui communiquer de la toxicité. Nous avons tué les bacilles d'une culture à un moment donné, et nous avons examiné ce que devenait sa toxicité comparativement avec une culture dont les bacilles restaient vivants ou du moins livrés à leur évolution naturelle; nous avons isolé les bacilles d'une culture, et, après les avoir tués, nous les avons immergés dans du bouillon neuf dont nous avons ensuite déterminé le pouvoir toxique, en même temps que le pouvoir toxique d'un autre bouillon ayant reçu la même quantité de bacilles vivants; nous avons immergé des bacilles vivants dans un liquide inapte à la culture (eau salée). Ces essais nous ont montré que les bacilles vivants sont plus aptes à communiquer au liquide ambiant de la toxicité que les bacilles morts; et nous concluons que la toxine est livrée au milieu ambiant par les bacilles vivants dans des conditions de bonne vitalité et d'actif fonctionnement.

D'après tout cela, l'opinion que nous croyons devoir nous former sur la nature de la toxine typhique est intermédiaire entre les opinions extrêmes. Il serait exagéré de l'assimiler absolument aux toxines diphtérique ou tétanique; mais il est faux d'en faire un principe toxique intracellulaire, une endotoxine, qui n'est libérée que par la mort des bacilles. La vérité est intermédiaire: c'est un principe soluble qui est versé dans le milieu ambiant par les bacilles en pleine vitalité et en plein fonctionnement, et en cela il se rapproche tout à fait des toxines diphtérique ou tétanique; mais une part notable reste tout au moins adhérente aux bacilles, tandis que, dans le cas des bacilles de Loeffler ou de Nicolaïer, ce ne paraît être qu'une partie infime que gardent les bacilles.

V. Critique des objections formulées contre la toxine soluble.

Comment concilier nos résultats et nos assertions avec ceux des auteurs qui ont conclu contre la toxine typhique?

On a dit: Les cultures complètes du bacille d'Eberth sont toxiques, et les cultures filtrées ne le sont pas; les corps bacillaires sont toxiques, et l'on peut en extraire des substances toxiques.

Si l'on a généralement déclaré que les cultures filtrées son

dénuées de toxicité, c'est parceque, sans doute, les cultures employées ne remplissaient pas les conditions requises pour le maximum de toxicité (conditions relatives à la qualité du bouillon, à sa quantité, et surtout à l'aération des cultures); c'est encore parcequ'on ne les éprouvait pas à dose suffisante; c'est enfin, et surtout, parcequ'on ne les prenait pas à un âge propice. La toxicité est très précoce, et son maximum fugace: laisser vieillir les cultures intentionnellement, dans l'espoir d'y voir s'accumuler la toxine, c'est faire fausse route; de ce que des essais faits avec des cultures vieilles ne décelent pas une toxine soluble, conclure qu'elle est absente, à plus forte raison, dans les cultures jeunes, c'est faire erreur. Le vieillissement des cultures du bacille d'Eberth est le meilleur moyen de méconnaître la sécrétion toxique de ce bacille.

Les cultures complètes sont en effet toxiques. Mais, sur ce point, ont pu intervenir, dans certaines expériences, des causes d'erreur: pour tuer les bacilles, on a parfois additionné les cultures d'acide phénique, et celui-ci se trouvait injecté avec la culture comme on le voit notamment dans les expériences de Funck, à une dose qui n'était nullement négligeable et pouvait concourir aux effets toxiques. Il est vrai que, cette cause d'erreur éliminée, les cultures complètes sont plus toxiques que les cultures filtrées; et même la toxicité des premières est plus que le double de celle des secondes. Mais, de cette seule constatation on n'est pas autorisé à conclure, comme on l'a fait, que la différence ou l'excès de toxicité des premières représente intégralement le pouvoir toxique des corps bacillaires: il peut se faire qu'une partie notable de la toxine reste sur le filtre; ou encore, comme nous croyons l'avoir constaté, que, dans le cas d'action simultanée des corps bacillaires et des produits dissous, il y ait une influence favorisante des uns sur les autres et une multiplication d'effets toxiques. En tout cas, il ne peut être légitime de conclure à la toxicité des corps bacillaires qu'après l'avoir directement constatée.

Quand on a reconnu que les corps bacillaires étaient toxiques, la comparaison avec les cultures filtrées a-t-elle été faite dans de bonnes conditions? Nous ne le croyons pas. Sans parler de l'intervention possible, dans les effets toxiques, de produits additionnels, tel que le chloroforme employé pour tuer les bacilles, nous pensons que le fait même d'agir avec des bacilles de cultures sur milieux solides, comme on l'a généralement fait, constitue une cause d'erreur. Une culture sur milieu solide ne paraît pas tout à fait assimilable à une culture en milieu liquide; les conditions de diffusion des principes solubles sont extrêmement différentes: un produit soluble ne peut-il pas rester, en plus ou moins grande quantité, adhérent aux bacilles cultivés sur agar, qui, dans une culture en bouillon, diffuserait dans le liquide? De plus, ce sont des bacilles de cultures jeunes sur agar que, suivant l'usage, on a dû prendre, tandis que les expériences sur les cultures filtrées étaient faites avec des cultures âgées. Et, dans ces conditions, à l'avantage des corps bacillaires, quel a été le procédé de comparaison? On a comparé des poids de bacilles avec des poids de bouillon de culture; on a déterminé le poids de bacilles correspondant à leur dose toxique, et, constatant que des centigrammes ou milligrammes de bacilles secs sont plus toxiques que des grammes de cultures filtrées, on a conclu que les premiers sont beaucoup plus toxiques que les secondes. Nous ne pouvons nous empêcher de déclarer singulière cette manière de raisonner.

Pour nous, il s'agit de savoir quelle est, dans une culture liquide, la

quantité de toxine qui se trouve, d'une part parmi les produits dissous, d'autre part dans les corps bacillaires du même volume de culture; et, si 50 ccm, par exemple, d'une culture en bouillon donnent 0,20 g de bacilles secs, ces 0,20 de bacilles doivent être comparés, non pas à un poids égal de culture filtrée, mais à 50 ccm.

Quant aux expériences faites avec les extraits de corps bacillaires, outre qu'elles méritent d'abord la même remarque relativement à la possibilité d'un surcroît de charge toxique des bacilles cultivés sur milieux solides, avec lesquels on a préparé ces extraits, leur signification, au point de vue qui nous occupe ici, est exactement celle des expériences portant sur les corps bacillaires bruts, à moins de faire intervenir la question de rendement de ces extraits. Or, lorsqu'un renseignement sur ce point est donné par les auteurs, par exemple dans le travail de Balthazard, nous constatons, par un calcul simple, que la quantité de produits toxiques extraits des bacilles est plus faible que celle que nous trouvons nous-mêmes, à l'état dissous, dans un volume correspondant de culture liquide filtrée. Il est d'ailleurs possible que ces extraits donnent un mélange de produits multiples, et que leur toxicité totale soit une résultante.

Conclusions.

Il n'est pas exact que les produits toxiques du bacille d'Eberth soient uniquement intracellulaires.

Les cultures filtrées de bacilles d'Eberth ne sont pas dénuées de toxicité. On décèle nettement leur pouvoir toxique, pourvu que soient réalisées des conditions très favorables à la pullulation des bacilles, et qu'on s'adresse à des cultures jeunes; la constatation de la toxicité dépend étroitement de l'âge auquel on éprouve les cultures.

Les cultures filtrées sont, il est vrai, peu toxiques; mais les corps bacillaires, pris dans des conditions rigoureusement similaires, et étudiés d'une façon vraiment comparative, ne le sont pas davantage, ils le sont généralement moins.

Le principe toxique qui donne la toxicité aux cultures filtrées n'est pas un produit de désagrégation des bacilles morts; il est versé dans le milieu par les bacilles vivants: ce n'est pas une endotoxine, c'est une sécrétion toxique. Toutefois, une partie notable de ce produit paraît rester incorporée ou adhérente aux corps bacillaires.

Ce principe toxique, insoluble dans l'alcool, sensible à la chaleur modérée, s'altère rapidement dans les cultures qui évoluent, au fur et à mesure qu'il est sécrété, de telle sorte que la toxicité est précaire et instable.

Parmi les produits au moyen desquels le bacille d'Eberth peut nuire (et quel que soit le rôle à attribuer aux substances vraiment intracellulaires), s'en trouve donc un, probablement le plus important et le plus redoutable, et responsable sans doute des actions à distance et des troubles généraux, qui est une toxine soluble ou toxine proprement dite.

La toxine du bacille d'Eberth peut se préparer par la méthode générale de préparation des toxines.

Nachdruck verboten.

Eine pestähnliche Rattenseuche, verursacht von einem Kapselbacillus der Friedländer-Gruppe.

[Aus dem königl. ungarisch. bakteriologischen Institute zu Budapest.]

Von Dozent Dr. **Aladár Aujeszky.**

Mit 8 Figuren.

In neuerer Zeit wurden einige für Ratten pathogene Bakterien beschrieben, deren morphologische Eigenschaften oder pathogene Wirkung mehr oder weniger an den Pestbacillus erinnern, und die Kenntnis dieser Mikroorganismen ist nicht nur aus theoretischen, sondern auch aus praktischen Gründen — in Beziehung auf die Diagnose der Pest — von großer Bedeutung. Aus diesem Standpunkte erscheint es nicht ohne Interesse zu sein, wenn ich im folgenden über eine im königl. ungarisch. bakteriologischen Institute beobachtete pestähnliche Rattenseuche und über deren Erreger berichte.

4 von 6 grauen Ratten, welche zu Tierexperimenten aus der Kőbányaer Schweinemast verschafft wurden, schienen am 2. resp. am 3. Tage nach ihrer Ankunft im Laboratorium schwer krank. Die Tiere wurden appetitlos, sträubten ihre Haare, atmeten sehr schnell, zitterten, bewegten sich ungerne, ihr Gang war taumelnd. Die Entkräftung schritt schnell vor und die Ratten gingen nach 1 $\frac{1}{2}$ —2 Tagen zu Grunde. Die anderen 2 Ratten blieben gesund.

Bei der Sektion aller umgestandenen Tiere fand ich die Milz stark vergrößert, erweicht und hyperämisch. Hyperämie zeigte sich außerdem auch an der Leber, in den Gedärmen und in den Lungen, aber andere pathologische Veränderungen konnte ich nicht konstatieren. Die bakteriologische Untersuchung führte auch bei allen 4 Ratten zu demselben Resultat. Mikroskopisch konnte ich in den aus dem Blute und aus der Milz verfertigten Ausstrichpräparaten denselben sich bipolar färbenden Kapselbacillus nachweisen (und zwar in der Milz in sehr großer Zahl, im Blut weniger). Manche Präparate erinnerten frappant an das Bild der Pest; nur durch Vergleichung mit Pestpräparaten konnte man konstatieren, daß die Dimensionen dieses Rattenbacillus doch größer sind, als jene des Pestbacillus.

Die Züchtung des Bacillus aus dem Blut und aus der Milz gelang auf Agar-Agar ohne Schwierigkeit.

Der Mikroorganismus vermehrt sich auf unseren gewöhnlichen Nährböden bei 37° äußerst schnell. Bei Zimmertemperatur wächst er etwas langsamer und bei 10° büßt er sein Wachstum ein. Ohne Luftzutritt wächst er nur kümmerlich.

Auf schrägem Agar bildet er prominente, feuchtglänzende, anfangs weißliche, doch rasch schleimig und transparent werdende Kolonien, welche sich schnell verbreiten, zerfließen und in 1—2 Tagen in das Kondenswasser hinunterrutschen. Das Kondenswasser wird dadurch fadenziehend, schleimig. Bei ungünstigen Züchtungsbedingungen (z. B. saurer Agarnährboden, anaerobe Züchtung) sind die Kolonien weiß und nicht transparent.

Auf Traubenzuckeragar zeigt sich die Stickskultur an der Oberfläche als ein dicker, feuchter, sich ausbreitender weißer Belag, im Stickskanal

als ein dünner, weißer Faden. Auf diesem Nährboden zeigt sich alsbald eine Gasbildung.

Auf der Gelatineplatte sieht man mit freiem Auge schon nach 24 Stunden nadelstichgroße, ins Graue melierte Punkte, welche bei schwacher Vergrößerung als runde, fein granuliert, dunkelgraue Kolonien erscheinen. Nach 48 Stunden erreichen die Kolonien die Größe eines Stecknadelkopfes, sie sind grauweiß und die aufliegenden stark prominent. Nach weiterem Wachstum der Kolonien, nach 3—5 Tagen sehen dieselben bei schwacher Vergrößerung nicht mehr granuliert aus, sondern sie werden homogen und von grünlich-graubrauner Farbe. Dementsprechend sind die früher makroskopisch weißlich erscheinenden Kolonien später etwas dunkler, gelblicher. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Die Gelatinestichkultur zeigt im Impfkanal erstens weiße, kleine Kolonien, welche später sich zu einem graulich-weißem Faden vereinigen; an der Oberfläche wächst ein prominenter, dicker, graulich-weißer Belag. Die Gelatine bekommt später eine schwache bräunliche Färbung.

Auf Kartoffel bildet unser Bacillus einen schleimigen, fadenziehenden, feuchtglänzenden, graulichen Belag, welcher sich über die ganzen Kartoffel rasch verbreitet. Aeltere Kartoffelkulturen sind von bräunlicher Farbe.

Bouillon wird stark getrübt, an der Oberfläche bildet sich manchmal ein Häutchen. Indolbildung ist nicht vorhanden.

Milch wird koaguliert und zwar im Thermostat am 3.—4. Tage, bei Zimmertemperatur erst später.

In Milch, Bouillon und Glycerinagar bildet der Mikroorganismus Säure, dagegen wurde diese Säurebildung bei gewöhnlichem alkalischem Agarnährboden nicht beobachtet.

Was die morphologischen Eigenschaften unseres Bacillus anbelangt, so ist dieser von ovaler Gestalt, oft auch, besonders aus gewissen Kulturen (Krälscher Agar) genommen, ziemlich kurz, coccus-ähnlich. Seinen Dimensionen nach gehört er zu den mittelgroßen Bakterien. Die Stäbchen sind gewöhnlich 5—8mal so lang als dick, aber die Dicke der einzelnen Stäbchen zeigt auch manche Abweichungen.

Oft bemerkt man auch schon an den mit gewöhnlichem wässrigem Fuchsin oder dem Löffler'schen alkalischen Methylenblau gefärbten Ausstrichpräparaten (Milz, Blut), besser aber an jenen, welche mit heißem Karbolfuchsin stark gefärbt und danach mit sehr verdünnter Essigsäure oder mit Alkohol entfärbt wurden, daß sich unser Rattenbacillus bipolar färben läßt.

In Bouillon- und auf Kartoffelkulturen bildet unser Bacillus oft kleine, aus 2—3 Gliedern bestehende Fäden. In älteren Kulturen kann man nicht nur solche Fäden, sondern auch Degenerationsgestalten, an einem Ende stark angeschwollene, am anderen Poles verdünnte und verlängerte Bacillen sehen.

Die Kapsel ist in den aus dem Kadaver, wie aus der Kultur verfertigten Präparaten meistens gut sichtbar. Sie ist viel breiter als der Körper des Bacillus. Gewöhnlich befindet sich in einer Kapsel nur ein Bacillus, doch oft kommt es vor, daß zwei Bacillen eine gemeinsame Kapsel haben, ja sogar in aus Kulturen gefärbten Präparaten sieht man es nicht selten, daß mehrere Bacillen durch eine Kapsel umhüllt werden, so daß dadurch Zoogloen entstehen.

Eigenbewegung besitzt unser Bacillus nicht, was auch mit der

Beobachtung übereinstimmt, daß die Geißelfärbungsversuche immer einen negativen Erfolg hatten.

Ebenso ist auch die Färbung nach Gram oder Gram-Weigert von negativem Resultat.

Sporen bildet unser Rattenbacillus nicht und daher ist seine Widerstandsfähigkeit gegenüber schädlichen Einflüssen im großen ganzen derjenigen ähnlich, welche die nicht sporenbildenden Bakterien besitzen.

In Kulturen, vor Licht und höherer Temperatur geschützt und vor Austrocknung bewahrt, bleibt er — wie es auch meine erste, jetzt über ein Jahr alte Agarkultur beweist — lange Zeit lebensfähig und virulent. Ueber seine Widerstandsfähigkeit können folgende Beobachtungen als Beispiel dienen:

Bei 50° gehalten (Aufschwemmung einer 24-stündlichen Agarkultur) ist er nach 20 Minuten noch überimpfbar, nach 30 Minuten schon nicht. Bei 55° gehalten ist er nach 5 Minuten noch überimpfbar, nach 10 Minuten nicht mehr. In 0,05-proz. Sublimatlösung geht er in 15 Sekunden zu Grunde. In 1-proz. Karbollösung 2 Minuten lang gehalten, bleiben nur wenig Bacillen am Leben, nach 3 Minuten gehen alle zu Grunde. In 1-proz. Essigsäure gehalten verliert er seine Ueberimpfbarkeit nach einer Stunde noch nicht, dagegen nach 1½ Stunden, sowie auch in 2-proz. Essigsäure binnen 15 Minuten sicher.

Die pathogene Wirkung unseres Rattenbacillus kann ich im folgenden resumieren:

Unter den gewöhnlichen Laboratoriumstieren sind für die Infektion außer der grauen Ratte¹⁾ die empfindlichsten die graue und die weiße Maus, weniger das Meerschweinchen, der Hund und das Kaninchen. Empfänglich sind weiterhin für subkutane Infektion die Erdziegel und die Feldmaus, unter den Vögeln — aber nur nach Injektion größerer Dosen — der Sperling. Dagegen erwiesen sich refraktär die Taube und das Huhn, sowie auch die größeren Haustiere.

Impft man graue Ratten mit virulenter Kultur subkutan, so geht ein Teil (besonders wenn die Infektion mit großer Dosis geschah) rasch (nach 20 Stunden oder einigen Tagen) zu Grunde. Gegenüber diesem septikämischen Verlauf steht eine andere, langsamer tötende Form der Krankheit, an welcher die Ratten nur nach 2—4 Wochen, ja sogar nur nach einigen Monaten eingehen. Im ersteren Falle (septikämische Form) sind die pathologischen Veränderungen im Kadaver desto minder, je früher sich der Tod einstellt; dauert die Krankheit einige Tage lang, so findet man Hämorrhagieen, Vergrößerung der Milz und Lymphdrüsen, eventuell Entzündung der Lunge und serösen Membranen, sowie auch an einzelnen Stellen seröse, blutigseröse, oder zellige und fibrinöse Infiltrationen. Sehr interessant ist das Sektionsbild bei solchen Ratten, welche nach mehrwöchentlichen Leiden eingehen. In diesem Fall kann die Vereiterung der stark vergrößerten Lymphdrüsen zu axillaren, inguinalen etc. Bubonen führen, die Mesenterialdrüsen können sich sogar in nußgroße Eitersäcke umwandeln. Oft werden diese Veränderungen von eiteriger Entzündung der serösen Membranen (Pleura) begleitet. Im Eiter sind die Bacillen gewöhnlich in enormer Menge vorhanden, im Blute meistens nur spärlich.

1) Außer den grauen Ratten standen mir andere Ratten nicht zur Verfügung, daher kann ich mich nur über die ersteren äußern.

Nach intraperitonealer Infektion stehen die Ratten nach 24 Stunden bis einigen Tagen um. In der Bauchhöhle findet man mehr oder weniger eiteriges Exsudat, die Milz und die Lymphdrüsen sind stark vergrößert, und war genug Zeit dazu, so kann sich zu diesem Bilde auch Lungenentzündung, wie eiterige Pleuritis anschließen.

Ratten kann man auch durch Inhalation infizieren. Tropft man nach der Methode Neumanns¹⁾ ein Tröpfchen der virulenten Kultur in das Nasenloch der chloroformierten und tief atmenden Ratte, so erkrankt das Tier alsbald an tödlicher Lungenentzündung.

Auch ziemlich empfänglich erwies sich für subkutane Infektion die Feldmaus (*Arvicola arvalis*).

Mäuse (graue und weiße) gehen infolge der subkutanen Infektion nach 1—4 Tagen zu Grunde. Einen chronischen Verlauf der Krankheit konnte ich bei den hypodermisch geimpften Mäusen nicht bemerken. Das Einreiben der virulenten Kultur in die skarifizierte Haut der Mäuse, sowie die intraperitoneale Infektion führte auch rasch zum Tode.

Eine mit 24-stündiger Agarkultur in die Haut des Schenkels geimpfte Erdziegel ging nach 4 Tagen zu Grunde (Milzvergrößerung, Hyperämie, Hodenentzündung; viele Bacillen in der Milz, in den Hoden und im Blute).

Das Meerschweinchen erwies sich weniger empfänglich für diesen Bacillus. Das Einreiben in die skarifizierte Haut hatte keinen Erfolg. Ein Teil der an der inguinalen Gegend subkutan geimpften Meerschweinchen blieb gesund, andere bekamen inguinale Bubonen und Hodenschwellung. Die Bubonen brachen nach einigen Tagen auf und der Prozeß ging in Heilung über. Die intraperitoneale Infektion wird von den Meerschweinchen auch ziemlich gut ertragen. Von 6 dieser Art geimpften Tieren blieben 4 gesund und nur 2 gingen an eiteriger Peritonitis zu Grunde. Von 2 chloroformierten und durch Inhalation infizierten Meerschweinchen erlag nur das eine.

Kaninchen zeigten sich nur für intravenöse Infektion empfänglich. Von 4 auf diese Weise infizierten Kaninchen gingen nur 2 zu Grunde (am 3. resp. am 6. Tage).

Ein junger Hund bekam am Orte der subkutanen Infektion einen Absceß, welcher nach einigen Tagen aufbrach und dann rasch heilte. Ein anderer junger Hund, welcher mit 1 ccm der Agaraufschwemmung intraperitoneal geimpft wurde, ging an eiteriger Bauchfellentzündung und Pleuritis nach 4 Tagen zu Grunde. Im Exsudat sowie im Blute war der Bacillus in großer Menge vorhanden.

Injektion von großen Mengen (8—10 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur) unter die Haut eines Kalbes und eines Lammes verursachte bloß eine geringe Temperaturerhöhung von $\frac{1}{2} \cdot 1\frac{1}{2}^{\circ}$ und eine handflächengroße lokale Schwellung, welche nach 5 Tagen spurlos verschwand.

Von 4 Tauben, welche mit 24-stündiger Bouillonkultur (1 ccm) subkutan geimpft wurden, bekamen 2 eine lokale, nach einigen Tagen verschwindende Schwellung, die anderen 2, sowie auch jene, welche intraperitoneal geimpft wurden und weiterhin jene, welche ich durch Inhalation infizieren wollte, blieben völlig gesund. Dasselbe be-

1) R. O. Neumann, Beitrag zur Frage der pestähnlichen rattenpathogenen Bakterien. (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLV. H. 3.)

obachtete ich auch an Hühnern. Sperlinge fielen nur dann als Opfer der Injektion, wenn ich denselben größere Mengen ($\frac{1}{2}$ —1 ccm) der Bouillonkultur in die Brustmuskeln injizierte.

Verfütterungsversuche zeigten, daß unser Rattenbacillus auch durch den Verdauungskanal infizieren kann; aus diesem Punkte ist es aber nur für die sehr empfänglichen Tiere (Maus, Ratte) gefährlich.

Die mit einigen Tagen alter Bouillonkultur eingetränkten Semmelstückchen gefütterten weiße und graue Mäuse gingen nach 2—5 Tagen sämtlich zu Grunde. Wurde die Bouillonkultur mit Wasser stark vermennt, so daß 1 l Wasser 10—20 ccm der Bouillonkultur enthielt, führte die Verfütterung zu einem fast negativen Resultat: die Mäuse blieben gesund oder sie gingen an Kachexie erst nach mehreren Wochen zu Grunde.

Von 9 mit (je 5 ccm Bouillonkultur) eingetränkten Semmelstückchen gefütterten Ratten blieben 4 gesund. 2 umstanden nach 18 und nach 26 Tagen an Marasmus, in ihren Organen konnte der Rattenbacillus nicht erwiesen werden. Die anderen 3 Tiere gingen erst nach 27, 63 resp. nach 120 Tagen zu Grunde. Im Körper dieser Ratten verursachte der Bacillus schwere Veränderungen; die Mesenterialdrüsen verwandelten sich in haselnußgroße Eitersäcke. In diesen Geschwülsten, sowie auch im Blute und in der vergrößerten Milz waren die Bacillen noch in lebendem Zustande vorhanden.

Die Organteile der verendeten Mäuse und Ratten hatte ich an 3 andere Ratten verfüttert: eine blieb völlig gesund, eine ging nach 30 Tagen und eine nach 23 Tagen zu Grunde (mesenteriale Bubonen etc.). Die mit stark gewässerter (20:1000) Bouillonkultur eingetränkten Semmelstückchen gefütterten 4 Ratten und 7 Feldmäuse erkrankten nicht. (3 Feldmäuse umstanden wohl nach 6—8 Wochen an Marasmus, aber ob ihr Tod mit der Verfütterung in Zusammenhang stand, war nicht zu entscheiden.)

Andere Tiere, mehrere Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben, Sperlinge, 2 Hühner, 2 junge Hunde, 1 Pferd, 1 Kalb und 1 Schaf, welche ich teils mit Organteilen der verendeten Mäuse und Ratten, teils mit großen Dosen der Agar- resp. Bouillonkultur des Bacillus durch 10—14 Tage verfütterte, blieben trotzdem gesund; nur an den Hühnern zeigte sich an den ersten 2 Tagen eine geringe Diarrhöe, welche alsbald verging.

Demnach scheint unser Bacillus — dessen Kultur die Mäuse nach Verfütterung tötet, und welcher andererseits für unsere nützlichen Haustiere nicht gefährlich ist — zur Vertilgung von Hausmäusen geeignet zu sein. Dagegen kann er zur Vertilgung der Ratten kaum gebraucht werden, da er nur einen Teil der gefütterten Ratten krank macht und diese gehen auch nur nach längerer Zeit (nach mehreren Wochen) zu Grunde. Zur Ausrottung der Feldmäuse kann er noch weniger in Betracht kommen, da er diese Tiere durch Verfütterung überhaupt kaum krank macht.

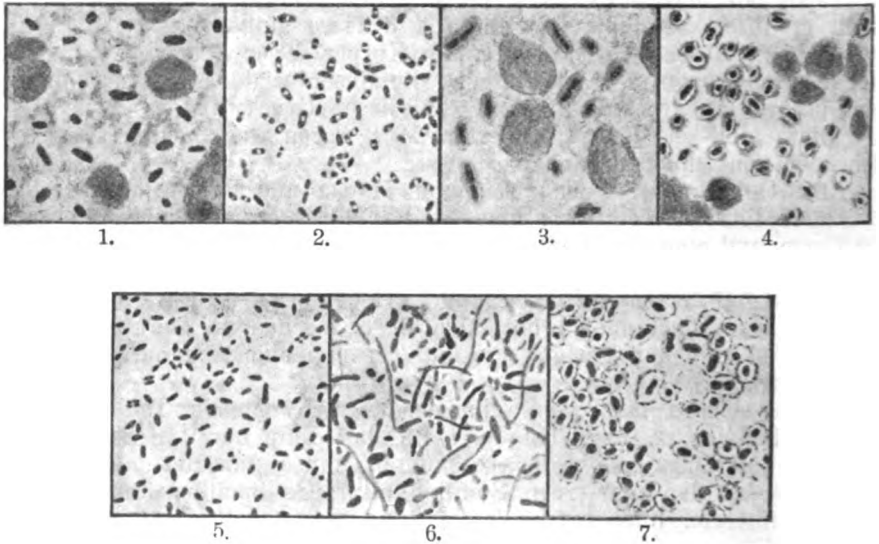
* * *

Wie aus dem Angeführten ersichtlich, gehört unser Bacillus in die Reihe der „Kapselbacillen der Friedländer-Gruppe“. Nun ist die Frage, welche Stellung er in dieser Gruppe einnimmt, und ob er nicht vielleicht identisch ist mit einem oder dem anderen schon beschriebenen Bakterium dieser Gruppe?

In Bezug auf seiner morphologischen und kulturellen Eigenschaften

ist es unzweifelhaft, daß unser Bacillus dem Friedländerschen Bacillus und dessen Varietäten¹⁾ sehr nahe steht und daher in erster Reihe mit diesem zu vergleichen ist.

Ich hatte Gelegenheit, meinen Bacillus mit 4 Stämmen des Friedländerschen Pneumobacillus und 2 Stämmen des Rhinosklerombacillus zu vergleichen. (Diese Kulturen — welche in einzelnen, wohl unwesentlichen Eigenschaften voneinander auch differierten — wurden von Prof. Paltauf unserem Institute gütigst überlassen.) Die Vergleichung zeigte, daß unser Rattenbacillus sich von den genannten Stämmen außer anderen, unwesentlichen Eigenschaften (transparentere, homogenere Kultur auf Agar, rascheres Abrutschen von der Oberfläche des schrägen Agars in das Kondenswasser, stärkeres Vergärungsvermögen, die mehr fadenziehende, feuchtere, graue Kultur auf Kartoffelnährboden gegenüber der trockeneren und weißlich-gelblicheren Farbe der Kartoffel-



kultur der anderen, welche letztere Differenz aber in einigen Wochen alten Kartoffelkulturen verschwindet), besonders dadurch unterscheidet, daß er die Milch zur Gerinnung bringt²⁾.

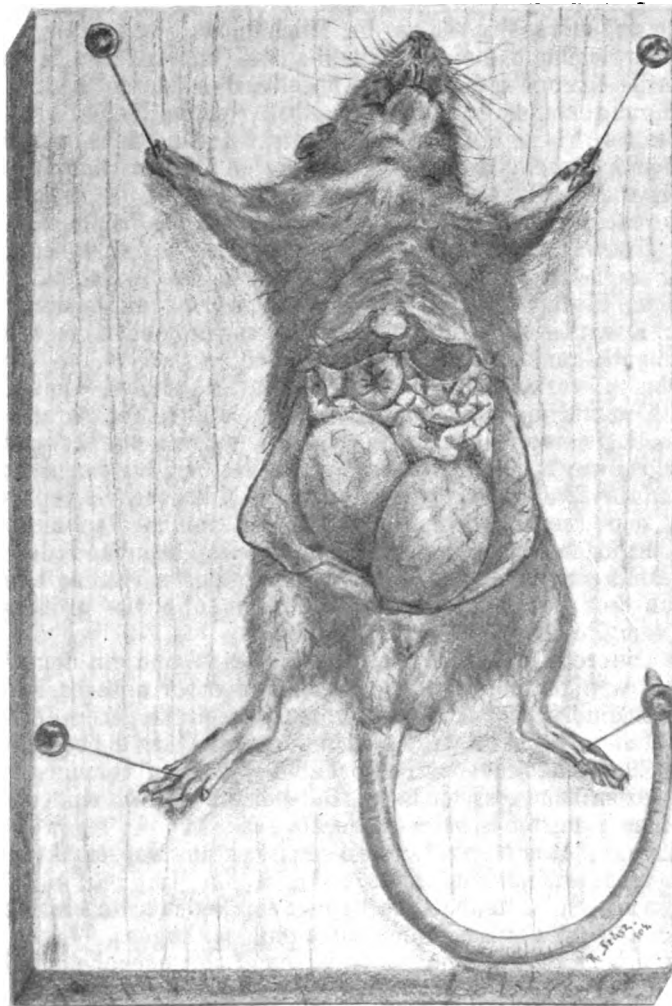
Gleichfalls ähnliche, nicht wesentliche kulturelle Differenzen zeigen sich zwischen unserem Rattenbacillus und zwischen jenen Kapselbacillen, welche Varietäten des Friedländerschen Bacillus bilden.

Unter den Kapselbacillen der Friedländer-Gruppe, standen mir

1) Ich will hier jetzt die Frage nicht berühren, ob der Rhinosklerombacillus, der Bac. ozaenae, wie auch manche in neuerer Zeit beschriebene und von dem Friedländerschen Bacillus sich nur unwesentlich unterscheidende Bakterien mit demselben wirklich identisch sind, oder nur Varietäten desselben bilden.

2) Nach Paltauf bringt der Rhinosklerombacillus die Milch zur Gerinnung, nach anderen Autoren (Abel, Babes) geschieht dies nicht. (Die 2 von Prof. Paltauf bekommenen Rhinoskleromstämme koagulierten die Milch nicht.) Andererseits fanden Denys und Martin, daß die Stämme des Friedländerschen Bacillus, welche in Milch fortgezüchtet wurden, die Milch endlich koagulierten. So scheint diese Differenz auch nicht sehr wesentlich zu sein.

außer den von Prof. Paltauf überlassenen Stämmen zur Vergleichung noch folgende zur Verfügung: *Bac. capsulatus mucosus*, *Bac. capsulatus Pfeiffer* und *Bac. capsulatus septicus* (alle 3 Stämme aus dem Laboratorium des Herrn Král).



8.

Der *Bac. capsulatus mucosus* Fasching (= *Bac. ozaenae* Tost, *Bac. mucosus ozaenae* Abel, *B. rhinitidis atrophicans* Paulsen) bildet auf Agar eine dickere, minder transparente Auflagerung, welche von der Oberfläche des schrägen Agars nicht in das Kondensationswasser hinabrutscht. Auf Kartoffel bildet er einen mehr gelblich-bräunlichen, minder feuchten Belag; dagegen ist der Belag unseres Rattenbacillus auf Kartoffel sehr feucht, mehr graulich. Milch wird vom *Bac. capsulatus mucosus* nicht koaguliert.

Pfeiffers *Bacillus capsulatus* und der *Bac. capsulatus septicus* (= *Bacillus proteus hominis* Bordoni-Uffreduzzi) zeigte auf Agar bei durchschimmerndem Lichte eine gelbe, bei direktem Lichte eine weiße Auflagerung, welche von der Oberfläche nicht herabrutscht; auf Kartoffel bilden beide einen weniger feuchten und nicht graulichen, sondern mehr gelblichen Belag; außerdem koaguliert der *Bac. capsulatus septicus* die Milch nicht.

Zur Vergleichung meines Rattenbacillus mit anderen in die Friedländerse-Gruppe gehörenden Kapselbacillen, deren Kultur mir nicht zur Verfügung stand, studierte ich die Arbeiten Fricke¹⁾, Sachs²⁾ und Matzuschitas³⁾, fand aber unter den in diesen Arbeiten beschriebenen Kapselbakterien keine, deren Eigenschaften mit jenen unseres Rattenbacillus gänzlich übereinstimmten.

Der neuestens von Gaffky⁴⁾ beschriebene pestbacillusähnliche *Bac. enteritidis mucosus* unterscheidet sich auch von unserem *Bacillus*, indem er in Gelatine sehr langsam wächst, keine Nagelkultur besitzt, in Bouillon Flocken bildet, kein Gärungsvermögen besitzt, die Milch nicht zur Koagulation bringt und für Meerschweinchen auch durch Verfütterung pathogen ist.

Da das mikroskopische Bild unseres Rattenbacillus — hauptsächlich in aus dem Organismus verfertigten frischen Ausstrichpräparaten — jenem des Pestbacillus frappant ähnlich sein kann, müssen wir ihm auch mit dem Pestbacillus, wie auch mit anderen, dem Pestbacillus morphologisch ähnlichen und in Rattenkadavern gefundenen Mikroorganismen vergleichen.

Das sehr rasche Wachstum unseres Rattenbacillus auf den künstlichen Nährböden, das Gärungsvermögen, die Gerinnung der Milch, sowie die äußere Erscheinung der Kolonien, dies sind alles Eigenschaften, welche unseren, auch in seinen Dimensionen etwas größeren Rattenbacillus vom Pestbacillus scharf trennen.

Von anderen, bisher in Ratten gefundenen und mit dem Pestbacillus mehr oder weniger ähnlichen Bacillen können wir unseren Rattenbacillus auch leicht unterscheiden. Ohne die schon seit längerer Zeit bekannten (die von Danysz, Issatschenko und Schilling beschrieben und in ihren Eigenschaften vom Pestbacillus, wie auch von unserem Rattenbacillus wesentlich verschiedenen Bacillen) zu erwähnen, will ich mich nur mit den jüngst beschriebenen befassen:

Kleins⁵⁾ *Bact. bristolense* ist kein Kapselbakterium, seine Kulturen erinnern an *Bacillus coli*.

Toyama⁶⁾ Rattenbacillus bewegt sich lebhaft, scheint keine Kapsel zu haben und ist für die Maus nur wenig pathogen.

Neumanns⁷⁾ Rattenbacillus ist nicht nur morphologisch, sondern

1) Fricke, Ueber den sogenannten *Bacillus mucosus capsulatus*. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXIII, 1896.)

2) Milan Sachs, Ein Beitrag zur Kenntnis der Kapselbakterien. (Dieses Centralblatt. I. Abt. Orig. Bd. XXIII. No. 9.)

3) Teisi Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. Jena (Verlag von Gustav Fischer) 1902.

4) Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch.

5) Klein, Ueber ein dem Pestbacillus ähnliches Bakterium: *B. Bristolense*. (Dieses Centralbl. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. p. 674.)

6) Toyama, Ueber ein für Hausratten pathogenes Bakterium. (Dieses Centralbl. I. Abt. Orig.)

7) Neumann, Beitrag zur Frage der pestähnlichen rattenpathogenen Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLV. H. 3.)

auch in seiner Kultur den Pestbacillus ähnlich, durch subkutane Impfung tötet er die Ratten nicht und ist für Kaninchen sehr pathogen.

A makos¹⁾ Bacillus ist dem Pestbacillus auch ähnlich, bildet aber auf Agar einen weißen Belag und ist für Tauben und Hühner auch pathogen.

Endlich muß ich Skschivans²⁾ vor einigen Wochen erschienene Mitteilung erwähnen, in welcher der Autor unter anderem sagt:

„Je mehr Ratten wir untersuchten, desto häufiger stießen wir auf Fälle, in denen bei scheinbarer Aehnlichkeit des Krankheitsbildes mit der Pest die Strichpräparate, Kulturen und Impfungen an Meerschweinchen ein negatives Resultat ergaben. In der Reihe dieser Beobachtungen, welche uns viel Zeit und viele Versuchstiere kosteten, verdienen besonders jene Fälle Erwähnung, in denen den Peststäbchen morphologisch ähnliche Bakterien in Ausstrichpräparaten gefunden wurden. Fanden sich bei solchen Ratten außerdem vereiterte Bubonen mit Metastasen in inneren Organen (Nieren) oder eine große hyperämische, von Knötchen durchsetzte Milz, so erscheint es begreiflich, daß wir die Diagnose, ob Pest vorliegt oder nicht, erst nach Untersuchung der angelegten Kulturen stellen durften.“ Skschivan teilt auch mit, daß er in Rattenskadavern zweierlei Arten „*Bac. capsulatus mucosus*“ fand, deren Beschreibung nächstens folgen soll und welche im Rattenkörper so frappant ähnliche Veränderungen hervorrufen, daß „in vielen Fällen ein Irrtum nicht ausgeschlossen erscheint, wenn man die Diagnose nur nach dem pathologisch-anatomischen Bilde und dem Ausstrichpräparate stellen wollte“.

Es kann wohl sein, daß die eine Art der von Skschivan isolierten zwei Arten *Bac. capsulatus mucosus* mit meinem Rattenbacillus identisch ist.

* * *

Am Ende meiner Mitteilung will ich noch bemerken, daß ich überhaupt nicht die Absicht habe den hier geschilderten Bacillus für eine „nova species“ ansehen lassen zu wollen. Nach den beschriebenen Eigenschaften kann ich und will ich ihn für nichts anderes halten, als ein Mitglied des stark bevölkerten Reiches der Kapselbakterien, welches eine Varietät der Friedländer-Rhinosklerom-Gruppe ist, welches aber wegen der in dem Rattenkörper hervorgerufenen Veränderungen in Betracht auf die Diagnose der Pest in verdächtigen Fällen von gewisser Wichtigkeit sein kann.

Budapest, den 30. April 1904.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Ausstrichpräparat aus Milz einer Ratte. Stäbchen ohne Polfärbung. Vergr. 1:1000. Fuchsin.

Fig. 2. Ausstrichpräparat aus Milz einer spontan verendeten Ratte. Polstäbchen. Vergr. 1:1000. Karbofuchsin-Essigsäure.

Fig. 3. Ausstrichpräparat aus dem Blute einer subkutan infizierten Ratte. Vergr. 1:1000. Fuchsin.

Fig. 4. Ausstrichpräparat aus dem peritonealen Exsudat eines in die Bauchhöhle geimpften Hundes. Kapselfärbung. Vergr. 1:1000. Anilinwässriges Gentianaviolett.

1) Amako, Ueber einen pestbacillusähnlichen Bacillus der hämorrhagischen Mäusesepikämie. (Dieses Centralbl. I. Abt. Referate. Bd. XXXIII. No. 10/11.)

2) Skschivan, Zur Kenntnis der Rattenpest. (Dieses Centralbl. I. Abt. Orig. Bd. XXXIII. No. 4.)

Fig. 5. Ausstrichpräparat aus einer Agarreinkultur. 18 Stunden alt. Vergr. 1:1000. Fuchsin.

Fig. 6. Ausstrichpräparat aus einer Kartoffelreinkultur. 2 Wochen alt. Degenerationsgestalten. Vergr. 1:1000. Fuchsin.

Fig. 7. Ausstrichpräparat aus einer Agarreinkultur. 36 Stunden alt. Kapseln. Vergr. 1:1000. Anilinwässriges Gentionviolett. (Sämtliche mikroskopische Abbildungen nach Mikrophotographien gezeichnet vom Assistenten A. Szász.)

Fig. 8. Kadaver einer mit dem Rattenbacillus gefütterten Ratte. Buboneu. Vergr. $\frac{27}{13}$. (Nach der Natur gezeichnet vom Assistenten A. Szász.)

Nachdruck verboten.

Toxines et Antitoxines. Le poison diphtérique.

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'Etat Danois, Copenhague.]

Par **Svante Arrhenius** et **Thorvald Madsen**.

Depuis quelque temps, la question de la nature du poison diphtérique, et en particulier de ses rapports avec l'antitoxine diphtérique, est le sujet d'une discussion très vive. La cause en fut une remarque de notre part¹⁾, que le poison diphtérique à tous égards essentiels, au moins tant qu'il est frais, semble être analogue à la tétanolsine quant à la saturation partielle avec l'antitoxine. De plus, nous renvoyions aussi aux études²⁾ sur un poison diphtérique spécial (No. 471) qui joue de même un rôle préminent dans les recherches suivantes.

Contre notre opinion, M. Ehrlich maintient très énergiquement³⁾ sa première conception⁴⁾ que le poison diphtérique, par opposition à la tétanolsine est un corps très compliqué. En même temps, l'un de nous publia⁵⁾ plusieurs calculs montrant que la combinaison du poison diphtérique avec l'antitoxine, suit, comme celle de la tétanolsine, la loi de Guldberg et Waage; que la partie toxique du poison frais se comporte comme si elle consistait d'une seule substance et qu'il n'y a pas de raisons suffisant pour croire qu'elle contienne des toxones. Quant au protoxoïde non toxique, il semble manquer au poison frais No. 471; au contraire, il paraissait qu'il se faisait valoir à un degré appréciable et dans le poison No. 471 au bout de neuf mois de conservation.

Le dernier mémoire contenait un certain nombre de données originales concernant le poison No. 471. En les examinant l'un de nous fut d'avis qu'elles étaient loin d'avoir été suffisamment utilisées selon leur mérite⁶⁾. Il était permis de croire qu'à l'aide de calculs plus détaillés, on pourrait arriver à de conclusions plus précises et plus étendues que celles tirées jusqu'ici. Un calcul d'essai fut donc exécuté après les règles usitées dans les sciences exactes où l'on se sert dans la plus

1) Festschrift ved Indvielsen af Statens Seruminstitut 1902. (Mém. T. III. S. Arrhenius u. Madsen.)

2) Dreyer et Madsen, Le même „Festschrift“. Mém. T. V.

3) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 31. Aug. 7., 14. Sept. 1903.

4) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 38.

5) Madsen, Oversigt o. d. Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Forhdl. 1903. No. 5. p. 523. — Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1893. No. 7. p. 630.

6) Voir, Anwendung der physikalischen Chemie auf die Serumtherapie par. S. Arrhenius. Berlin 1904. p. 12. — Extrait der „Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte“. T. XX.

grande étendue possible des données originales mentionnées. Ce calcul fit voir que les chiffres ainsi obtenus présentent une marche plus égale que les résultats de calcul indiqués dans la publication précitée. Et, de plus, on obtint ce résultat extrêmement intéressant que même le poison conservé pendant 9 mois, No. 471, présente une courbe de neutralisation d'un parcours égal et continu, absolument analogue à celle du poison frais, avec cette seule différence que la force du poison conservé n'était que $\frac{2}{3}$ de celle du poison frais. Aucune trace d'un protoxoïde ne put être démontrée, tout aussi peu que dans le poison frais.

De plus, une nouvelle série d'expériences, entreprises dans l'automne de 1903, avec le poison No. 471 présentèrent (aussi à l'aide du calcul ordinaire) une courbe de neutralisation tout à fait égale sans la moindre trace de protoxoïde. Il était donc naturel d'entreprendre un calcul uniforme et exact de toutes les données originales concernant les poisons diphtériques dont dispose l'Institut séro-thérapeutique de l'Etat Danois, afin d'éclaircir si cette nonexistence des protoxoïdes était une particularité du poison No. 471, ou si elle était commune à tous les poisons diphtériques. Nous donnons ici les résultats de nos calculs faits dans ce but, concernant 3 poisons différents, No. 371, A et C, l'Institut disposant de matériaux considérables touchant ces poisons. Nous pouvons dire immédiatement que les calculs d'après la méthode améliorée montrent que la courbe de combinaison est unie (sans protoxoïdes) bien que les calculs selon la méthode simple employée jusqu'ici pour les poisons font supposer leur présence. Ce résultat, qui montre que le poison diphtérique même vieux est d'un caractère homogène, est éminemment opposé à l'opinion de M. Ehrlich, que la toxine diphtérique est un composé complexe au plus haut degré, et variant extrêmement d'un poison à un autre.¹⁾

Le poison No. 471 provient d'un bacille américain de Park & Williams à New York.

Le poison C, comme le poison A provient de bacilles de l'Institut de M. Ehrlich²⁾.

1) Dans un mémoire inséré à la Berl. klin. Wochenschr. 1904. 29. févr. p. 222—223. M. Ehrlich prétend que j'ai fait des objections aux données de Madsen dans l'article du Centralblatt. Il m'est impossible de comprendre comment mes remarques ont pu donner lieu à une interprétation si inexacte de la part de M. Ehrlich. La phrase de M. Ehrlich est aussi presque verbalement reproduite par son collaborateur, M. le Freiherr v. Dungern dans la Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 8 et 9. Au contraire, j'étais d'avis que les expériences de M. Madsen étaient d'une telle portée que ses données méritaient d'être traitées par une méthode de calcul plus rigoureuse que celle appliquée auparavant. Les résultats de cet examen, qui sur la plupart des points ont confirmé les données de Madsen, ont aussi parfaitement récompensé le travail employé, comme le lecteur de cet article voudra bien le reconnaître.

De même, il me semble probable que les expériences de M. Ehrlich sur le poison diphtérique sont dignes d'un traitement plus exact que celui qu'elles n'ont reçu jusqu'ici. Dans ce but une publication de toutes les données sur ce sujet serait à souhaiter. Il est très à regretter que M. Ehrlich ne semble pas disposé à tel plan. Il prétend (l. c. p. 223) que les calculs reposent sur des suppositions trop simples et qu'ils sont restreints à une seule méthode de recherches. Certainement M. Ehrlich se limite à „notre science biologique“. Il ne serait donc vrai pour les sciences biologiques comme pour les autres sciences, que leur but est de donner la plus simple explication des phénomènes. Il est aussi certain, que le calcul est applicable à toutes les déterminations quantitatives, et il me semble impossible de supposer que M. Ehrlich veut bien que les sciences biologiques se restreignent à des recherches purement qualitatives. S. Arrhenius.

2) Pour plus de détails sur les poisons 471 etc. nous renvoyons au mémoire de Madsen cité dans le Centralblatt.

Les tableaux ajoutés donnent des détails sur la variation de la dose mortelle, et des temps écoulés.

L'antitoxine employée pour les expériences était du testsérum de Ehrlich.

Le poison No. 471 a, de plus, été neutralisée, dans une série d'observations, avec du sérum provenant d'un cheval absolument normal qui n'avait jamais été immunisé.

Mode de calcul. Pour déterminer la dose mortelle, on suit un procédé expérimentatif le mieux expliqué par la première expérience faite relative au poison No. 471: Les quantités 0,002; 0,002; 0,0015; 0,0015; 0,001 et 0,001 ccm de poisons diphtériques furent injectées sous la peau à 6 cobayes d'un poids de 250 gr. Les 4 premiers moururent respectivement en 3, 3, 5, 5 et 6 jours. Ceux qui avaient reçu la moindre quantité de poison, ne moururent pas, mais eurent un gros oedème suivi de nécrose, avec des pertes de poids. En d'autres termes, plus grande est la dose de toxine, plus vite les animaux succombent, et si la quantité de poison est au-dessous d'une certaine quantité, ils ne meurent pas.

Il fallut donc définir la dose mortelle comme la quantité de poison qui tue un cobaye au bout d'un certain temps, 3,3 jour p. ex. Si nous avons choisi cette dose mortelle, elle est, au cas présent, bien proche de 0,002 ccm, puisque les 2 cobayes ayant reçu cette dose, moururent respectivement après 3 et 3,5 jours, en moyenne au bout de 3,25 jours. Nos prédécesseurs se sont contentés de cette détermination, et diront que la dose mortelle est en ce cas 0,002 ccm. On obtenait ainsi des chiffres arrondis pour la dose mortelle ce qui a eu une certaine influence sur les chiffres déduits du matériel d'observation, puisque, par suite, ils ont une tendance d'être en proportions simples, parceque les doses injectées — en ce cas 0,002, 0,0015 et 0,001 ccm furent choisies, pour une plus facile orientation, de façon à être dans de proportions numériques simples. Mais comme dans la chimie, les proportions simples — d'après la loi des proportions multiples — jouent un très grand rôle, M. Ehrlich a cherché à démontrer des relations simples similaires dans la toxicité quant aux diverses substances, contenues, selon lui, dans les toxines. et, en partie, dans la toxine diphtérique; il y fonde même partiellement sa nomenclature, p. ex: l'„hémtoxine“, est constituée par une portion de toxine moitié moins forte que le poison original, „la toxine pure“, „Reintoxin“. Il nous semble assez probable que ces proportions simples sont dues surtout à ce que les doses expérimentelles furent choisies dans des proportions simples, et à d'autres circonstances moins essentielles.

Pour éviter tout danger semblable, nous supposons que dans l'exemple choisi, la dose mortelle n'est pas précisément 0,002 ccm, mais un peu plus petite, puisqu'en moyenne les cobayes meurent en un temps plus court, 3,25 jours, que celui fixé pour la dose mortelle — nous trouvons dans le tableau ci-dessous que 0,002 ccm sont de 2 pour cent plus forts que la dose mortelle, qui est donc égal à 0,00196 ccm.

Nous voyons aussi dans ce qui précède qu'une dose tuant en 5,5 (la moyenne de 5 et 6) jours, est 150 : 196, c. a. d. 0,758 de la dose mortelle. Ce chiffre une fois déterminé, on pourra utiliser au calcul de la dose mortelle non seulement les données où la mort arrive en 3,3 jours, ou à proximité immédiate, mais encore les cas où cette période est de toute autre étendue: ainsi, l'applicabilité du matériel d'observation

s'agrandit de beaucoup. Voilà la raison, pourquoi on peut obtenir de valeurs plus exactes d'après cette manière de calculer que d'après la vieille.

Comme le sait tout observateur qui s'est occupé de ces sortes de recherches, les différents cobayes sont différemment sensibles au poison: p. ex., un cobaye, au cas présent, meurt au bout de 3 jours, un autre au bout de 3,5 jours après l'injection de 0,002 ccm de solution toxique, (à toutes les injections il fallut ajouter tant d'eau que le volume entier fut d'env. 4 ccm). Dans la plupart des cas les écarts entre les diverses observations sont encore plus grands. Il devint donc nécessaire de se servir de la moyenne de beaucoup d'expériences pour obtenir des matériaux assez étendus; il est donc très avantageux que tout le matériel d'observation puisse être utilisé par un procédé comme celui que nous venons de décrire.

Des pesages des animaux en observation furent aussi pratiqués. Généralement, on voit, comme il est naturel, que le poids du sujet décroît à mesure qu'on augmente l'injection. Le plus souvent, la perte de poids s'accroît pendant les premiers jours et atteint son maximum au 5^e ou 6^e jour. Au bout de ce temps, le changement de poids devient très irrégulier, variant d'un cas à l'autre; par suite, les calculs du poids exécutés plus de 6 jours après l'injection sont peu utilisables pour la détermination de la force du poison.

Si l'on évalue le maximum du 5^e jour à 100, la perte de poids, suivant une moyenne déduite d'un grand nombre d'expériences, faites avec des poisons frais, se voit par le tableau ci-après.

Au bout de 1 jour, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 40, 52, 70, 87, 100, 98, 94, 78, 51, 11 à l'aide de ce tableau, il est possible, puisqu'on connaît la perte de poids à un temps donné, de calculer la valeur de la perte maxima, si l'animal résiste, ou ce qu'elle aurait dû être, s'il succombe avant le 5^e jour.

En général, les données du premier jour sont peu certaines parce que les pesages ne furent le plus souvent faits qu'avec une exactitude de 5 g, et peu des déterminations du poids ont été faites au bout des premières 24 heures. Dans la plupart des pesages, on les a exécutés au bout de 2, 3, 4, 5 et 6 jours. On obtient ainsi plusieurs valeurs de la perte maxima, dont on calcule la moyenne. La dose mortelle fut déterminée de cette façon et correspond à une perte de poids de 34 g, en moyenne au bout de 2 jours, ou à 65 g de perte maxima au bout de 5 jours, si l'animal avait vécu jusque-là. Une demi-dose mortelle donne une perte de poids de 30 g, au 5^e jour. Par la comparaison d'un grand nombre de cas, nous avons obtenu une table qui permet de calculer la dose mortelle, si l'on connaît la perte maxima de poids après l'injection d'une dose donnée.

Ce tableau, avec le tableau relatif à la variation du temps de la mort avec la dose injectée, se trouve ci-dessous. Ces deux tableaux ont servi à calculer la dose mortelle de toute expérience notée sur les journaux d'observation.

Les valeurs dernières ne sont employées que quand elles indiquent que la moyenne de la dose mortelle déduite des autres données est trop petite: elles donnent des valeurs minima de la dose mortelle.

Temps de la mort.

Jours	corresp. à dose mortelle	Jours	corresp. à dose mortelle	Jours	corresp. à dose mortelle
1	1,6	3,5	0,97	8	0,59
1,5	1,4	4	0,91	9	0,55
2	1,25	4,5	0,85	10	0,51
2,5	1,15	5	0,80	12	0,45
3	1,05	6	0,71	14	0,4
3,3	1,0	7	0,64	14	0,4

Perte de poids maxima.

Grammes	corresp. à dose mortelle	Grammes	corresp. à dose mortelle	Grammes	corresp. à dose mortelle
120	1,3	55	0,85	30	0,5
100	1,2	50	0,78	20	0,45
80	1,1	45	0,7	10	0,40
65	1,0	40	0,61	0	0,35
60	0,92	35	0,55	0	0,35

Pour les vieux poisons, la perte de poids donne un chiffre relativement haut de la dose mortelle. En d'autres termes, les poisons longtemps gardés n'abaissent pas tant le poids que les poisons frais. Tel est surtout le cas pendant les premiers jours; voilà pourquoi, en pareil cas, nous n'avons pas employé pour les poisons plus âgés d'un an que très rarement les déterminations du poids, trouvées après deux jours, et seulement à défaut d'autres données. Ce changement de l'effet du poison gardé pendant quelque temps, semble indiquer que la vitesse de diffusion du poison s'amointrit avec le temps.

A l'aide de ces tableaux, il devient facile de calculer, à nouveau, toutes les données de l'exemple présent, de manière à indiquer la valeur de la dose mortelle. Avec 1:10 000 ccm comme unité, la dose mortelle sera 20:1,07 = 18,7; 20:0,97 = 20,6; 15:0,80 = 18,8, et 15:0,71 = 21,1. De plus, on obtient deux valeurs minima, au-dessus de la moyenne de ce chiffre dont il faudra aussi tenir compte, à savoir 10:0,4 = 25,0, et 10:0,4 = 25,0. — Quant à la moyenne de ces valeurs, il faut se servir de la moyenne géométrique, puisqu'il s'agit ici de chiffres proportionnels, c. a. d. de valeurs relatives, et non absolues¹⁾; elle est 21,4, c. a. d. la dose mortelle = 0,0024 ccm.

Sur les deux animaux qui résistèrent, on fit des expériences de poids. L'un avait perdu au bout de 5 jours, 45 g, au bout de 3 jours, 35 g, ce qui correspond à 50 g après 5 jours. — La perte maxima du poids est donc en moyenne 47,5 g, correspondant à 0,74 de la dose mortelle. Cette dernière serait donc seulement de 13,5, 0,0001 ccm. L'autre cobaye gagna en poids, et donne ainsi la valeur minima de la dose mortelle = 10:0,35 = 28,6. La moyenne géométrique est 19,6. — On le voit, en ce cas spécial, les écarts des valeurs calculées des temps de la mort sont comparativement petits, le chiffre variant à peu près dans la proportion 3—4. Par contre, les valeurs déduites de la perte en poids correspondent moins bien, la variation étant plus grande que 1:2. Dans des séries comprenant un matériel d'observation assez grand, on rencontre régulièrement de telles grandes variations, comme il ressort des tableaux adjoints, circonstance qui montre combien il est nécessaire d'employer la moyenne d'un grand nombre d'expériences, si l'on veut obtenir des données d'une assez grande exactitude, et qui puissent être avantageusement utilisées pour le calcul. Il en est surtout ainsi là où

1) Cette manière de calculer est aussi d'accord avec la loi de Weber.

Tab. I. Poison No. 471. Détermination de la dose mortelle.

28 octobre à 7 novembre 1901.

15:0,8 = 18,8	10:0,35 = 28,6
15:0,71 = 21,1	10:0,74 = 13,5
20:0,92 = 20,6	Moy. = 19,6
20:1,07 = 18,7	M. q. = 21,6
10:0,4 = 25,0	
10:0,4 = 25,0	
Moy. = 21,4	

6-20 janvier 1902.

22:1,25 = 17,6	20:1,2 = 16,7
22:1,5 = 14,7	20:1,93 = 19,4
20:0,91 = 21,8	20:0,92 = 21,7
20:0,4 = 50,0	20:0,61 = 32,8
20:1,3 = 15,4	17:1,1 = 15,5
20:0,85 = 23,5	17:0,78 = 21,8
19:1,15 = 16,5	17:0,5 = 34,0
17:0,8 = 21,2	15:1,2 = 12,5
17:0,7 = 24,3	15:0,45 = 33,3
17:0,4 = 42,5	14:0,47 = 29,8
15:1,31 = 11,5	13:0,87 = 14,9
15:1,05 = 14,3	13:0,47 = 27,7
15:0,85 = 17,7	13:0,92 = 14,1
15:0,85 = 17,7	13:0,50 = 26,0
14:0,4 = 35,0	11:0,35 = 31,5
14:0,97 = 14,4	Moy. = 22,2
13:0,91 = 14,2	M. q. = 22,2
13:0,4 = 32,5	
13:0,4 = 32,5	
13:0,4 = 32,5	
11:0,4 = 27,5	
Moy. = 22,2	

11 février à 5 mars 1902.

20:1,15 = 17,4	20:1,1 = 18,2
20:1,25 = 16,0	20:1,2 = 16,7
20:0,91 = 20,6	20:1,5 = 40,0
17:0,75 = 22,7	19:0,55 = 34,5
16:0,4 = 40,0	18:0,40 = 45,0
15:0,75 = 20,0	17:1,1 = 15,4
15:0,40 = 37,5	17:0,55 = 30,8
Moy. = 23,4	16:1 = 16,0
M. q. = 23,8	15:0,55 = 26,7
	15:0,78 = 19,3
	15:0,85 = 17,7
	15:0,50 = 30,0
	Moy. = 24,2

19 juin 1902.

30:0,97 = 30,9	30:0,92 = 32,8
25:0,67 = 37,5	25:0,57 = 43,9
Moy. = 34,0	Moy. = 38,0
	M. q. = 35,3

28 octobre à 15 novembre 1902.

30:0,97 = 30,9	30:0,78 = 38,5
30:0,97 = 30,9	30:0,92 = 32,6
30:0,97 = 30,9	20:0,85 = 34,1
29:0,67 = 43,2	28:1,1 = 25,5
28:0,85 = 32,9	27:0,61 = 44,3
27:0,5 = 54,0	26:0,92 = 28,3
26:0,75 = 34,7	25:0,92 = 27,2
25:0,97 = 25,8	25:0,70 = 35,7
25:0,59 = 42,4	25:0,55 = 45,4
25:0,59 = 42,4	Moy. = 33,7
Moy. = 36,0	M. q. = 34,9

19 juin à 25 juillet 1903.

40:1,6 = 25,0	35:0,87 = 40,3
35:0,97 = 36,1	35:0,64 = 54,7
35:0,59 = 59,3	34:0,85 = 40,0
34:0,45 = 75,5	33:0,51 = 64,7
33:0,7 = 47,1	32:0,48 = 66,7
32:0,4 = 80,0	31:0,44 = 70,4
31:0,85 = 36,5	30:0,47 = 63,8
30:0,4 = 75,0	30:0,55 = 54,5
30:0,4 = 75,0	Moy. = 55,8
Moy. = 52,7	M. q. = 54,3

5-17 septembre 1903.

40:1,4 = 28,6	35:0,45 = 77,8
40:1,4 = 28,6	35:0,78 = 44,9
37:1,05 = 35,2	34:0,5 = 68,0
37:0,97 = 38,1	33:0,42 = 78,6
36:0,97 = 37,1	32:0,55 = 58,2
35:0,67 = 52,2	Moy. = 64,1
35:0,67 = 52,2	M. q. = 46,7
34:1,05 = 32,4	
34:0,91 = 37,4	
33:0,4 = 82,5	
33:1,05 = 31,4	
33:0,4 = 80,0	
Moy. = 40,9	

10 décembre 1903.

35:1,15 = 30,4	35:0,7 = 50,0
35:1,05 = 33,3	35:0,58 = 60,4
35:1,05 = 33,3	32:0,45 = 71,1
35:0,97 = 36,1	32:0,48 = 66,7
35:0,85 = 41,2	32:0,92 = 34,8
35:0,4 = 87,5	32:0,58 = 55,2
32:1,05 = 30,5	32:0,50 = 64,0
32:0,85 = 37,6	29:0,75 = 38,6
32:0,75 = 42,7	29:0,50 = 58,0
32:0,55 = 58,1	29:0,7 = 41,4
32:0,4 = 80,0	29:0,86 = 33,7
32:0,4 = 80,0	29:0,61 = 47,6
29:1,05 = 27,6	Moy. = 50,3
29:0,85 = 34,1	M. q. = 47,2
29:0,85 = 34,1	
29:0,65 = 44,6	
29:0,4 = 72,5	
29:0,4 = 72,5	
Moy. = 45,2	

Tab. II. Poison No. 471. Neutralisation par de l'antitoxine.

Février 1902.

n = 0. D.L. = 23,8. Toxicité = 420.

n = 0,05. M. q. = 32,0.	
1:50.0,75 = 26,7	1:50.0,9 = 22,2
1:50.1,25 = 16,0	1:55.0,4 = 45,5
1:55.0,4 = 45,5	1:55.0,5 = 36,3
1:55.0,5 = 36,8	1:60.0,4 = 41,6
Moy. = 28,9	Moy. = 35,2
n = 0,1. M. q. = 32,7.	
1:40.1 = 25,0	1:40.0,61 = 41,0
1:40.1,4 = 17,9	1:43.0,85 = 27,4
1:43.0,85 = 27,4	1:45.0,85 = 26,1
1:45.0,85 = 26,1	1:45.0,78 = 35,1
1:45.0,4 = 55,5	1:50.0,45 = 44,4
1:50.0,4 = 50,0	1:50.0,55 = 36,4
1:50.0,4 = 50,0	1:60.0,5 = 41,6
1:50.0,61 = 32,8	Moy. = 35,4
1:50.0,61 = 32,8	
1:55.1,4 = 13,0	
1:60.0,4 = 41,6	
Moy. = 31,0	
n = 0,15. M. q. = 41,3.	
1:30.0,75 = 44,5	1:30.0,45 = 74,2
1:30.1,4 = 23,7	1:37.0,55 = 49,1
1:35.1,25 = 22,8	1:40.1 = 25,0
1:37.0,5 = 54,0	1:40.0,5 = 50,0
1:40.0,7 = 35,7	Moy. = 46,2
1:40.0,4 = 62,5	
Moy. = 37,8	
n = 0,20. M. q. = 47,8.	
1:20.1,15 = 43,5	1:20.0,96 = 52,1
1:25.0,67 = 59,7	1:25.0,78 = 51,3
1:30.1,15 = 29,0	1:30.0,92 = 36,2
1:30.0,75 = 44,5	1:30.0,78 = 42,7
1:35.0,4 = 71,4	1:35.0,45 = 63,5
Moy. = 47,4	Moy. = 48,3
n = 0,25. M. q. = 74,0.	
1:17.1,15 = 51,2	1:17.0,7 = 75,4
1:20.0,91 = 54,9	1:20.0,5 = 100,0
1:25.0,4 = 100,0	1:25.0,4 = 100,0
Moy. = 65,5	Moy. = 91,0
n = 0,3. M. q. = 84,9.	
1:10.1,15 = 87,0	1:10.0,92 = 108,7
1:15.1,15 = 57,9	1:15.1,2 = 53,5
1:15.0,91 = 73,3	1:15.0,92 = 72,5
1:17.0,4 = 147,1	1:17.0,7 = 84,0
1:19.0,75 = 70,2	1:19.0,55 = 95,7
1:20.0,4 = 125,0	1:20.0,6 = 83,4
Moy. = 88,3	Moy. = 81,5
n = 0,35. M. q. = 138,1.	
1:8.1,4 = 80,3	1:10.0,9 = 111,1
1:10.0,61 = 164,0	1:12.0,5 = 166,7
1:12.0,45 = 185,2	Moy. = 136,2
Moy. = 139,3	

n = 0,4. M. q. = 215.	
1:5.0,91 = 220	1:5.1,15 = 174
1:5.0,75 = 267	1:5.0,70 = 285
1:6.0,91 = 183	1:6.0,92 = 181
Moy. = 221	Moy. = 208
n = 0,45. M. q. = 426.	
1:2.1,4 = 357	1:3.0,60 = 546
1:3.1,15 = 290	1:4.0,64 = 390
1:4.0,4 = 625	Moy. = 463
Moy. = 402	
n = 0,5. M. q. = 2000.	
1:1.0,4 = 2500	1:1.0,7 = 1428
	1:1.0,35 = 2857
	1:1.0,7 = 1428
	Moy. = 1800
Sérum normal. 18 mars 1902.	
n = 0. D.L. = 23,8.	
n = 0,075. M. q. = 25,2.	
1:45.1,05 = 21,2	1:47.0,8 = 26,6
1:47.0,75 = 28,4	
Moy. = 24,6	
n = 0,15. M. q. = 42,3.	
1:30.0,91 = 36,6	1:30.0,78 = 42,7
1:40.0,65 = 29,4	1:40.0,45 = 55,5
1:45.0,4 = 55,5	1:45.0,48 = 46,3
1:50.0,4 = 50,0	1:50.0,64 = 31,3
Moy. = 41,6	Moy. = 43,0
n = 0,225. M. q. = 51,7.	
1:26.1,05 = 36,6	1:26.0,61 = 62,9
1:28.1,05 = 34,0	1:30.0,42 = 79,4
1:30.0,7 = 47,6	Moy. = 70,8
Moy. = 39,0	
n = 0,3. M. q. = 87,6.	
1:15.0,91 = 73,3	1:15.0,49 = 136,1
1:17.0,97 = 60,6	1:17.1,1 = 53,5
1:20.0,4 = 125,0	1:20.0,45 = 111,1
Moy. = 82,2	Moy. = 93,1
n = 0,375. M. q. = 240.	
1:7.0,85 = 178	1:8.0,48 = 261
1:8.0,4 = 312	
Moy. = 229	
n = 0,45. M. q. = 464.	
1:2.1,05 = 476	1:3.0,61 = 546
1:3.0,5 = 667	1:4.0,7 = 357
1:4.0,63 = 397	1:6.0,35 = 476
1:6.0,4 = 417	Moy. = 453
Moy. = 479	
n = 0,6. M. q. = 1125.	
1:1.1,6 = 625	1:2.0,75 = 1428
1:2.0,4 = 1250	
Moy. = 835	

n = 0,675. M. q. = 2500.
 1 : 1.0,4 = 2500

n = 0,75. M. q. = 28570.
 1 : 1.0,35 = 28570

28 octobre à 15 novembre 1902.
 n = 0. D.L. = 34,9.

n = 0,06. M. q. = 44,0.

1 : 22.1,15 = 39,5	1 : 22.0,50 = 90,8
1 : 26.1,4 = 27,5	1 : 30.0,50 = 66,7
1 : 30.0,67 = 50,0	1 : 35.0,42 = 68,1
1 : 35.0,75 = 38,1	1 : 35.0,38 = 75,2
1 : 35.0,85 = 33,6	1 : 40.0,55 = 45,5
1 : 40.0,55 = 45,5	1 : 50.0,9 = 22,2
1 : 50.0,4 = 50,0	
	Moy. = 56,1
Moy. = 39,8	

n = 0,12. M. q. = 45,9.

1 : 22.1,05 = 43,3	1 : 22.0,7 = 64,9
1 : 26.1,15 = 33,4	1 : 26.0,92 = 41,8
1 : 30.0,61 = 54,6	1 : 30.0,5 = 66,7
1 : 35.0,67 = 42,7	1 : 35.0,4 = 71,4
1 : 35.1,4 = 20,4	1 : 40.0,46 = 54,4
1 : 40.0,4 = 62,5	1 : 40.0,9 = 27,8
1 : 40.0,4 = 62,5	1 : 45.0,79 = 28,1
1 : 45.0,4 = 55,5	
	Moy. = 47,5
Moy. = 44,4	

n = 0,18. M. q. = 52,9.

1 : 22.0,85 = 54,4	1 : 22.0,47 = 96,6
1 : 26.0,55 = 69,9	1 : 26.0,61 = 62,4
1 : 30.0,75 = 44,4	1 : 30.0,49 = 60,1
1 : 35.0,67 = 42,6	1 : 35.0,47 = 60,8
1 : 35.1,15 = 24,9	1 : 35.0,45 = 63,5
1 : 35.1,25 = 22,9	1 : 35.0,35 = 81,7
1 : 40.0,4 = 62,5	1 : 40.0,58 = 43,1
1 : 40.0,4 = 62,5	1 : 40.0,82 = 30,5
	Moy. = 60,1
Moy. = 45,7	

n = 0,24. M. q. = 68,5.

1 : 18.1,15 = 48,3	1 : 18.1,02 = 54,3
1 : 18.0,85 = 65,4	1 : 20.0,73 = 68,5
1 : 20.0,55 = 90,9	1 : 20.0,5 = 100,0
1 : 20.0,67 = 74,6	1 : 22.0,87 = 52,2
1 : 22.0,59 = 76,9	1 : 24.0,72 = 57,9
1 : 24.0,55 = 75,8	1 : 27.0,24 = 88,2
1 : 27.0,4 = 92,5	1 : 30.0,55 = 60,6
1 : 30.0,4 = 83,4	1 : 35.0,68 = 24,1
1 : 35.0,4 = 71,4	
	Moy. = 63,1
Moy. = 73,3	

n = 0,30. M. q. = 89,1.

1 : 12.0,85 = 98,3	1 : 12.1 = 83,3
1 : 14.1,15 = 62,1	1 : 14.0,45 = 159,0
1 : 14.0,97 = 73,6	1 : 14.0,55 = 129,7
1 : 16.1,15 = 54,3	1 : 16.0,45 = 139
1 : 16.0,59 = 105,9	1 : 16.0,5 = 125
1 : 18.0,59 = 94,1	1 : 18.0,78 = 71,2
1 : 20.0,45 = 111,1	1 : 20.0,78 = 64,1
1 : 25.0,4 = 100,0	1 : 25.0,97 = 41,2
	Moy. = 93,1
Moy. = 84,9	

n = 0,36. M. q. = 151.

1 : 8.0,97 = 129	1 : 8.0,61 = 205
1 : 10.0,55 = 189	1 : 10.0,45 = 222
1 : 10.0,59 = 170	1 : 10.0,78 = 128
1 : 11.0,59 = 154	1 : 11.0,7 = 142
1 : 12.0,4 = 209	1 : 12.0,47 = 177
1 : 13.0,75 = 126	1 : 13.0,47 = 164
1 : 15.0,59 = 113	1 : 15.0,78 = 85,5
1 : 17.0,4 = 147	1 : 17.0,48 = 123
	Moy. = 150
Moy. = 152	

n = 0,4. M. q. = 235.

1 : 4.0,97 = 258	1 : 4.0,73 = 342
1 : 6.1,15 = 145	1 : 6.0,78 = 214
1 : 7.0,59 = 251	1 : 7.0,50 = 285
1 : 8.0,59 = 212	1 : 7.0,42 = 340
1 : 7.0,75 = 191	1 : 8.0,61 = 205
1 : 8.0,45 = 278	1 : 8.0,47 = 266
1 : 10.0,4 = 250	1 : 10.0,58 = 173
	Moy. = 254
Moy. = 222	

n = 0,48. M. q. = 420.

1 : 3.0,61 = 546	1 : 3.0,7 = 476
1 : 3.1,05 = 317	1 : 4.0,8 = 313
1 : 4.0,55 = 455	1 : 4.0,47 = 532
1 : 4.0,4 = 625	1 : 5.0,72 = 278
1 : 5.0,4 = 500	1 : 6.0,61 = 273
	Moy. = 366
Moy. = 476	

n = 0,54. M. q. = 1400.

1 : 1.0,59 = 1700	1 : 1.0,72 = 1390
1 : 1.0,40 = 2500	1 : 1.0,51 = 1960
1 : 2.0,40 = 1250	1 : 2.0,42 = 1190
	1 : 3.0,68 = 490
	Moy. = 1120
Moy. = 1740	

n = 0,6. M. q. = 1370.

1 : 1.1,4 = 714	1 : 2.0,68 = 1470
1 : 1.0,4 = 2500	1 : 1.0,35 = 1430
1 : 2.0,4 = 1250	
	Moy. = 1450
Moy. = 1310	

17-26 septembre 1903.
 n = 0. D.L. = 46,7.

n = 0,20. M. q. = 62,2.

1 : 23.1,15 = 37,8	1 : 25.0,42 = 95,2
1 : 25.0,66 = 60,6	1 : 28.0,61 = 58,5
1 : 28.0,4 = 89,3	
	Moy. = 67,0
Moy. = 59,0	

n = 0,30. M. q. = 74,5.

1 : 20.0,97 = 51,5	1 : 20.0,63 = 79,4
1 : 22.0,61 = 74,3	1 : 22.0,61 = 74,3
1 : 27.0,4 = 92,6	1 : 27.0,46 = 80,5
	Moy. = 78,0
Moy. = 71,0	

n = 0,4. M. q. = 98,0.

1 : 15.1,05 = 63,5	1 : 15.0,42 = 158,7
1 : 16.0,4 = 156,3	1 : 16.0,61 = 102,5
1 : 16.1,05 = 59,5	1 : 16.0,78 = 80,2
1 : 18.0,4 = 138,6	1 : 18.0,55 = 101,1
	Moy. = 100,7
Moy. = 95,3	

n = 0,5. M. q. = 102.

1 : 10 . 0,97 = 103,0	1 : 10 . 0,35 = 285,7
1 : 12 . 1,15 = 72,4	1 : 12 . 0,55 = 151,5
1 : 13 . 1,15 = 66,9	1 : 16 . 0,7 = 89,3
1 : 15 . 1,15 = 58,0	Moy. = 157,0
1 : 16 . 0,8 = 78,2	
Moy. = 74,3	

n = 0,6. M. q. = 180.

1 : 9 . 0,75 = 148,2	1 : 9 . 0,85 = 130,7
1 : 10 . 0,4 = 250	1 : 10 . 0,47 = 213
Moy. = 193	
Moy. = 167	

n = 0,7. M. q. = 270.

1 : 5 : 0,97 = 206	1 : 5 . 0,61 = 328
1 : 6 : 0,7 = 238	1 : 6 . 0,55 = 303
Moy. = 222	
Moy. = 315	

n = 0,8. M. q. = 485.

1 : 3 . 0,97 = 344	1 : 3 . 0,35 = 952
1 : 4 . 0,4 = 625	1 : 4 . 0,78 = 321
Moy. = 463	
Moy. = 552	

n = 0,9. M. q. = 880.

1 : 1 . 0,08 = 1256	1 : 1 . 0,82 = 1220
1 : 2 . 1,15 = 435	1 : 3 . 0,41 = 813
1 : 3 . 0,4 = 833	
Moy. = 767	
Moy. = 995	

n = 1,0. M. q. = 1515.

1 : 1 . 0,67 = 1490	1 : 1 . 0,65 = 1540
---------------------	---------------------

n = 1,20.

1 : 1 . 0,35 = 2860

Tab. III. Poison A. Détermination de la dose létale.

19—21 octobre 1897.

700 : 0,91 = 770	600 : 0,92 = 652
600 : 0,91 = 660	600 : 0,82 = 732
600 : 0,59 = 1017	600 : 1,02 = 588
600 : 0,8 = 750	500 : 0,92 = 544
500 : 0,4 = 1250	500 : 1,05 = 476
500 : 0,85 = 588	500 : 0,80 = 625
500 : 0,91 = 550	400 : 0,92 = 435
400 : 0,4 = 1000	400 : 0,54 = 741
400 : 0,4 = 1000	400 : 0,85 = 471
400 : 0,4 = 1000	300 : 0,59 = 499
Moy. = 832	
Moy. = 567	
M. q. = 700	

4 janvier 1898.

1000 : 1,05 = 953	840 : 0,92 = 913
1000 : 0,91 = 1100	840 : 1,1 = 764
900 : 1,15 = 783	840 : 0,7 = 1200
900 : 1,05 = 857	840 : 0,85 = 989
900 : 1,05 = 857	800 : 1,03 = 777
900 : 0,91 = 989	800 : 0,7 = 1140
840 : 1,05 = 800	800 : 0,7 = 1140
840 : 0,91 = 923	800 : 0,86 = 930
840 : 0,85 = 989	700 : 0,97 = 721
840 : 0,85 = 989	700 : 0,86 = 814
840 : 0,7 = 1200	600 : 1,01 = 594
840 : 0,63 = 1330	600 : 0,58 = 1040
800 : 0,97 = 825	500 : 0,97 = 516
800 : 0,91 = 879	500 : 0,48 = 1040
800 : 0,85 = 941	Moy. = 845
800 : 0,8 = 1000	M. q. = 962
800 : 0,8 = 1000	
800 : 0,75 = 1070	
700 : 0,7 = 1000	
700 : 0,4 = 1700	
600 : 0,7 = 857	
600 : 0,4 = 1500	
500 : 0,4 = 1250	
500 : 0,4 = 1250	
Moy. = 1026	

11 mai 1898.

840 : 0,91 = 923	840 : 1,2 = 700
840 : 0,91 = 923	840 : 0,82 = 2000
840 : 1,05 = 800	840 : 0,70 = 1200
840 : 0,7 = 1200	840 : 0,55 = 1530
840 : 0,7 = 1200	Moy. = 1265
840 : 0,7 = 1200	M. q. = 1123
Moy. = 1028	

27 août 1898.

840 : 0,97 = 867	840 : 0,55 = 1554
840 : 0,59 = 1420	840 : 0,55 = 1554
840 : 0,4 = 2100	Moy. = 1554
Moy. = 1374	
M. q. = 1450	

13 septembre 1898.

1400 : 1,05 = 1330	1200 : 0,65 = 1860
1400 : 1,05 = 1330	1200 : 0,76 = 1560
1200 : 1,05 = 1140	1100 : 0,49 = 2240
1200 : 1,05 = 1140	1100 : 0,68 = 1610
1200 : 0,91 = 1320	1100 : 0,59 = 1860
1200 : 0,8 = 1500	1100 : 0,94 = 1170
1100 : 0,7 = 1560	1000 : 0,87 = 1150
1100 : 0,59 = 1560	1000 : 0,75 = 1330
1100 : 0,55 = 2000	1000 : 0,87 = 1150
1100 : 0,4 = 2750	900 : 0,70 = 1290
1000 : 1,05 = 953	900 : 1,02 = 883
1000 : 0,91 = 1010	840 : 0,61 = 1380
1000 : 0,7 = 1430	840 : 0,4 = 2100
1000 : 0,7 = 1430	840 : 0,61 = 1380
900 : 0,63 = 1430	840 : 0,78 = 1060
900 : 0,63 = 1430	Moy. = 1422
840 : 0,4 = 2100	M. q. = 1485
840 : 0,4 = 2100	
840 : 0,4 = 2100	
840 : 0,4 = 2100	
Moy. = 1535	

17 octobre 1898.

1500 : 1,05 = 1430	1400 : 0,87 = 1610
1500 : 0,85 = 1770	1400 : 0,87 = 1610
1400 : 1,05 = 1330	1260 : 0,72 = 1750
1400 : 0,7 = 2000	1260 : 0,65 = 2290
1260 : 0,7 = 1800	1260 : 0,50 = 2520
1260 : 0,7 = 1800	1260 : 0,43 = 2930
1260 : 0,4 = 3150	Moy. = 2060
1260 : 0,4 = 3150	M. q. = 2000
Moy. = 1960	

Tab. IV. Poison A. Neutralisation.

3 septembre 1898.

n = 0. D. L. = 70,7 = $\frac{1485}{21}$

n = 0,05. M. q. = 95	
1:15.0,7 = 95,2	1:15.0,5 = 133
1:20.0,7 = 71,4	1:20.0,5 = 100
1:20.0,7 = 71,4	1:20.0,5 = 100
1:25.0,5 = 80,0	1:25.0,4 = 100
1:25.0,4 = 100	1:25.0,35 = 114
Moy. = 81,3	Moy. = 109

n = 0,125. M. q. = 114	
1:12.0,7 = 119	1:12.0,64 = 130
1:15.0,63 = 106	1:15.0,45 = 148
1:15.0,4 = 167	1:15.0,72 = 92,8
1:20.0,4 = 125	1:20.1,03 = 48,5
1:20.0,4 = 125	1:20.0,47 = 106
Moy. = 127	1:25.0,35 = 114
	1:25.0,49 = 81,6
	Moy. = 980

n = 0,15. M. q. = 100	
1:10.1,05 = 95,2	1:12.0,47 = 177
1:10.1,05 = 95,2	1:14.0,49 = 146
1:12.0,63 = 132	1:14.0,5 = 143
1:12.1,05 = 794	1:20.0,87 = 56,3
1:14.0,91 = 650	1:25.0,45 = 88,9
1:14.0,63 = 114	1:25.0,35 = 114
1:20.0,67 = 74,7	Moy. = 113
1:25.0,4 = 100	
1:25.0,4 = 100	
Moy. = 93,1	

n = 0,25. M. q. = 110	
1:10.0,91 = 110	1:10.0,87 = 115
1:10.0,91 = 110	1:10.0,64 = 156
1:10.0,85 = 118	1:10.0,49 = 204
1:12.0,63 = 132	1:12.1,05 = 79,5
1:12.0,63 = 132	1:12.0,42 = 199
1:12.0,91 = 91,6	1:12.0,48 = 174
1:14.0,61 = 117	1:14.0,96 = 74,5
1:15.0,97 = 83,7	1:15.1,03 = 64,7
1:15.0,4 = 167	1:15.0,4 = 167
1:20.0,4 = 125	1:20.0,55 = 90,9
1:20.0,4 = 125	1:20.0,4 = 125
1:20.0,7 = 71,4	1:20.1,03 = 48,5
Moy. = 108	Moy. = 113

n = 0,30. M. q. = 140	
1:8.1,05 = 119	1:9.1,2 = 92,5
1:9.0,97 = 115	1:10.0,48 = 208
1:10.0,45 = 222	Moy. = 128
Moy. = 145	

n = 0,35. M. q. = 168	
1:6.1,05 = 159	1:7.0,63 = 227
1:7.0,97 = 146	1:7.0,82 = 174
1:7.0,85 = 168	1:7.0,82 = 174
1:7.0,7 = 204	Moy. = 190
1:8.1,05 = 119	
Moy. = 157	

n = 0,40. M. q. = 190

1:6.0,97 = 172	1:6.0,87 = 192
1:7.0,7 = 204	1:7.1,2 = 119
1:8.0,4 = 313	1:8.0,72 = 174
Moy. = 222	Moy. = 159

n = 0,45. M. q. = 224

1:5.0,97 = 206	1:5.0,63 = 317
1:6.0,8 = 208	1:6.0,87 = 192
1:7.0,97 = 147	1:7.0,5 = 286
Moy. = 185	Moy. = 259

27 août 1898.

n = 50. M. q. = 290

1:4.1,05 = 238	1:4.0,92 = 272
1:5.0,85 = 235	1:5.0,92 = 217
1:6.0,4 = 417	1:6.0,4 = 417
1:6.0,4 = 417	1:6.0,45 = 370
Moy. = 314	1:9.0,45 = 247
	1:9.0,4 = 278
	1:12.0,35 = 238
	1:12.0,35 = 238
	Moy. = 278

n = 0,25. M. q. = 488

1:5.0,4 = 590	1:5.0,87 = 230
1:3.0,42 = 793	1:3.0,5 = 667
1:4.0,4 = 625	1:4.0,46 = 543
1:5.0,4 = 590	1:5.0,43 = 465
1:5.0,42 = 476	1:5.0,6 = 333
Moy. = 568	Moy. = 419

n = 0,6. M. q. = 475

1:4.0,85 = 294	1:4.0,45 = 555
1:3.0,7 = 476	1:3.0,64 = 520
1:4.0,42 = 595	1:4.0,55 = 455
Moy. = 437	Moy. = 513

n = 0,672. M. q. = 663

1:2.0,91 = 549	1:2.1,12 = 446
1:4.0,59 = 424	1:4.0,61 = 410
1:2.0,4 = 1250	1:2.0,4 = 1250
1:3.0,4 = 833	1:3.0,5 = 667
1:4.0,4 = 625	1:4.0,35 = 714
Moy. = 685	Moy. = 641

n = 0,72. M. q. = 823

1:3.1,05 = 317	1:3.1,3 = 256
1:4.0,4 = 625	1:4.0,5 = 560
1:1.0,85 = 1177	1:1.1,03 = 971
1:1.0,63 = 1587	1:1.0,61 = 1639
1:2.0,8 = 625	1:2.0,35 = 1428
1:2.0,4 = 1250	1:2.0,52 = 962
1:3.0,4 = 833	1:3.0,35 = 952
Moy. = 818	Moy. = 828

n = 0,785. M. q. = 1450

1:2.1,05 = 4761	1:2.0,35 = 1428
1:2.0,4 = 1250	1:2.0,35 = 1428
1:1.0,59 = 1690	1:1.0,78 = 1282
1:1.0,4 = 2500	1:1.0,35 = 2857
Moy. = 1260	Moy. = 1650

Tab. V. Poison C. Détermination de la dose létale.

7 septembre à 18 octobre 1898.		16 novembre à 23 novembre 1898.	
100:1,4 = 71,4	70:0,61 = 115	80:1,05 = 76,2	80:0,47 = 170
70:1,05 = 66,7	70:0,87 = 80,8	80:0,55 = 146	80:0,40 = 200
70:0,57 = 123	70:0,87 = 80,8	75:0,40 = 187	75:0,51 = 147
70:1,15 = 60,8	70:0,57 = 122,5	75:0,40 = 187	75:0,46 = 163
70:0,8 = 87,5	70:0,85 = 82,4	70:0,8 = 87,5	70:0,63 = 113
70:0,91 = 76,9	60:0,48 = 125	70:0,8 = 87,5	70:0,60 = 140
70:0,8 = 87,5	60:0,76 = 79,1	70:0,8 = 87,5	70:0,50 = 140
70:0,8 = 87,5	60:0,76 = 79,1	70:0,75 = 93,3	70:0,99 = 70,7
60:0,55 = 109	60:0,35 = 171,4	Moy. = 111,7	Moy. = 103
60:1,4 = 42,9	60:0,75 = 80		M. q. = 107,3
60:0,61 = 98,4	50:0,47 = 106,4		
60:0,59 = 102	50:0,35 = 143		
60:0,4 = 150	50:0,92 = 69,5		
60:0,8 = 75	40:0,35 = 114,3		
60:1,15 = 52,1	30:0,40 = 75,0		
50:0,91 = 55,0	Moy. = 98,0		
50:0,85 = 58,9	M. q. = 86,4		
50:0,4 = 125			
50:0,4 = 125			
40:0,4 = 100			
Moy. = 77,8			

13 janvier 1899.	
90:1,05 = 85,7	90:1,03 = 87,3
90:1,05 = 85,7	90:1,03 = 87,3
90:1,05 = 85,7	80:0,75 = 107
90:0,91 = 98,9	80:0,63 = 127
80:0,91 = 87,9	70:0,87 = 80,5
80:0,4 = 200	70:0,87 = 80,5
76:0,91 = 78,7	Moy. = 93,5
70:0,4 = 175	M. q. = 86,1
Moy. = 81,1	

la quantité d'antitoxine ajoutée au poison est nulle, comme au cas présent, ou petite. Cette incertitude, dépendant de la grandeur extraordinaire des erreurs d'expérience pour les petites quantités d'antitoxine ajoutées a éminemment contribué à la formation de l'hypothèse des prototoxoides atoxiques (suivant la dénomination de Ehrlich) dans la toxine diphtérique et dans d'autres poisons. En fin de compte, il faut calculer la moyenne des deux moyennes 21,4 et 19,6 que nous venons de trouver. Il faut alors considérer que la première moyenne a été déduite de trois fois autant d'observations que la dernière, et qu'ainsi elle doit compter triplement. Mais la grande différence même entre les valeurs isolées entrant dans la seconde moyenne, diminue son importance, de sorte qu'il ne faut évaluer son poids qu'à environ un cinquième de celui de la première: par suite, la moyenne entre les deux sera donc $\frac{1}{6} (5 \cdot 21,4 + 19,6) = 21,1$.

Dans les tableaux ainsi calculées, la première colonne contient la valeur de la dose mortelle déduite des temps de mort, la deuxième celles calculées d'après la perte de poids. Tous les chiffres ont été multipliés par 10000 pour éviter des chiffres trop longs. Les tableaux indiquent les données originales complètes: p. ex., 0,91 dans la colonne des temps de mort marque que l'animal succomba 4 jours après l'injection, 0,61 dans la colonne de la perte de poids, que la perte maxima correspondait à 40 grammes (au 5^e jour après l'injection).

Le premier chiffre dans les tableaux de la dose mortelle indique le nombre de dix millièmes ccm de poison injecté. — Dans les tableaux concernant la neutralisation avec l'antitoxine, le premier chiffre indique la quantité en ccm du mélange toxine-antitoxine injecté. Si donc, quant au poison No. 471, et $n=0,05$, on trouve dans la colonne des temps de mort $1:50.0,75=26,7$, cela signifie que d'un mélange de toxine-antitoxine, contenant 0,05 (n) parties d'antitoxine, exprimé en fraction de l'unité immunisante, et 0,1 ccm de poison, on injecta $\frac{1}{50}$ avec de l'eau supplémentaire; et que l'animal alors mourut en 5,5 jours. La dose mortelle contient donc $0,1 \cdot \frac{1}{50} \cdot \frac{1}{0,75}$ ccm = 0,00267 ccm = 26,7 unités. — La valeur $1:50.0,9=22,2$ dans la colonne de perte de poids, montre

Tab. VI. Poison C. Neutralisation.

18 juillet à 18 octobre 1898.

$$n = 0. \quad D. L. = 14,4 = \frac{86,4}{6}$$

n = 0,15. M. q. = 19,0	
1 : 50 . 1,15 = 17,4	1 : 60 . 0,85 = 19,6
1 : 60 . 0,91 = 18,3	1 : 70 . 0,85 = 16,8
1 : 70 . 0,7 = 20,4	1 : 70 . 0,8 = 17,9
1 : 70 . 0,63 = 22,7	
Moy. = 19,6	Moy. = 18,1

n = 0,25. M. q. = 27,0	
1 : 40 . 1,25 = 20,0	1 : 45 . 0,65 = 34,2
1 : 45 . 0,97 = 22,9	1 : 50 . 0,65 = 30,8
1 : 50 . 0,91 = 22,0	1 : 50 . 0,65 = 30,8
1 : 50 . 0,85 = 23,5	1 : 60 . 0,45 = 37,0
1 : 60 . 0,85 = 19,6	1 : 60 . 0,73 = 22,8
1 : 60 . 0,4 = 41,7	1 : 70 . 0,68 = 21,0
1 : 70 . 0,4 = 35,7	
Moy. = 25,4	Moy. = 28,8

n = 0,35. M. q. = 30,0	
1 : 35 . 0,63 = 45,3	1 : 35 . 0,15 = 43,9
1 : 40 . 0,85 = 29,4	1 : 40 . 0,7 = 35,7
1 : 40 . 0,59 = 42,4	1 : 40 . 0,9 = 27,8
1 : 50 . 0,67 = 29,9	1 : 50 . 0,88 = 22,7
1 : 50 . 0,7 = 28,6	1 : 50 . 0,86 = 23,3
1 : 60 . 0,05 = 15,9	
Moy. = 30,3	Moy. = 29,7

n = 0,5. M. q. = 87,8	
1 : 15 . 0,75 = 88,9	1 : 15 . 0,45 = 148,2
1 : 17 . 0,67 = 87,8	1 : 17 . 0,71 = 82,8
1 : 18 . 0,75 = 74,1	1 : 18 . 0,82 = 67,8
1 : 20 . 0,4 = 125,0	1 : 20 . 0,4 = 125,0
1 : 20 . 0,85 = 58,8	1 : 20 . 0,7 = 71,4
1 : 25 . 0,4 = 100,0	1 : 25 . 0,6 = 66,7
Moy. = 86,7	Moy. = 88,0

n = 0,55. M. q. = 100	
1 : 10 . 1,25 = 80,0	1 : 15 . 0,42 = 158,7
1 : 13 . 1,15 = 66,9	
1 : 15 . 0,51 = 130,7	
Moy. = 88,7	

n = 60. M. q. = 250	
1 : 2 . 1,4 = 357	1 : 6 . 0,47 = 354,6
1 : 2 . 1,25 = 400	1 : 6 . 0,51 = 326,8
1 : 3 . 1,25 = 266,7	1 : 8 . 0,48 = 260,4
1 : 4 . 1,15 = 217,4	1 : 10 . 0,7 = 142,9
1 : 4 . 1,25 = 200	
1 : 5 . 1,25 = 160	Moy. = 256,6
1 : 6 . 1,25 = 133,3	
1 : 6 . 0,4 = 416,7	
1 : 6 . 0,4 = 416,7	
1 : 8 . 1,15 = 108,7	
1 : 8 . 0,4 = 312,5	
1 : 10 . 0,4 = 250	
Moy. = 247,0	

n = 0,65. M. q. = 410	
1 : 1 . 1,15 = 869,6	1 : 1 . 0,92 = 1087
1 : 1 . 1,05 = 952,4	1 : 1 . 0,92 = 1087
1 : 2 . 0,75 = 666,7	1 : 2 . 0,92 = 543,5
1 : 2 . 1,25 = 400	1 : 3 . 1,05 = 317,5
1 : 3 . 1,25 = 266,7	1 : 3 . 0,61 = 546,5
1 : 3 . 0,64 = 520,8	1 : 4 . 0,90 = 277,8
1 : 3 . 0,4 = 833,3	1 : 4 . 0,45 = 555,6
1 : 4 . 1,05 = 238,1	1 : 5 . 0,65 = 307,7
1 : 4 . 0,4 = 625	1 : 5 . 1,03 = 194,2
1 : 4 . 1,05 = 238,1	1 : 6 . 0,87 = 191,6
1 : 6 . 0,91 = 183,2	1 : 8 . 0,90 = 138,9
Moy. = 453	1 : 8 . 0,62 = 201,6
	Moy. = 365

n = 0,67. M. q. = 1050	
1 : 1 . 0,4 = 2500	1 : 1 . 0,52 = 1923
1 : 1 . 1,05 = 952,4	1 : 1 . 1,2 = 833,3
1 : 1 . 1,25 = 800	
1 : 1 . 1,25 = 800	Moy. = 1260
1 : 1 . 1,25 = 800	
1 : 1 . 1,25 = 800	
Moy. = 995	

n = 0,70. M. q. = 810	
1 : 1 . 0,4 = 2500	1 : 1 . 0,92 = 1087
1 : 1 . 1,25 = 800	1 : 1 . 0,40 = 2500
1 : 1 . 1,05 = 952,3	1 : 2 . 1,05 = 476,2
1 : 1 . 0,8 = 1250	1 : 2 . 1,03 = 485,4
1 : 2 . 1,25 = 400	1 : 4 . 0,47 = 531,9
1 : 2 . 0,91 = 549,5	1 : 1 . 0,65 = 1538,5
1 : 2 . 0,64 = 781,2	Moy. = 895
1 : 3 . 1,05 = 317,5	
1 : 4 . 0,4 = 625	
Moy. = 757	

n = 0,72. M. q. = 970	
1 : 1 . 0,67 = 1492,5	1 : 1 . 0,85 = 1176,5
1 : 1 . 0,67 = 1492,5	1 : 1 . 0,85 = 1176,5
1 : 1 . 1,05 = 952,3	1 : 2 . 1,03 = 485,4
1 : 2 . 0,91 = 549,5	
Moy. = 1040	Moy. = 875

n = 0,75. M. q. = 2070	
	1 : 1 . 0,42 = 2381
	1 : 1 . 0,45 = 2222
	1 : 1 . 1 = 1000
	1 : 1 . 0,40 = 2500
	1 : 1 . 0,35 = 2857
	Moy. = 2070

n = 0,9. M. q. = 2550	
	1 : 1 . 0,35 = 2857
	1 : 1 . 0,40 = 2500
	1 : 1 . 0,43 = 2325,6
	Moy. = 2550

qu'un cobaye (même animal que celui nommée récemment), après une injection de la quantité mentionnée de toxine, éprouva une perte maxima de poids de 58,5 g (en moyenne, calculée pour le 5^e jour). La dose toxique de la quantité injectée était (en 10 000 ccm) 20, dont on conclut que la dose mortelle était au cas présent 26,7, suivant l'un mode de mensuration, 22,2, selon l'autre.

Quant au poison A, 2,1 ccm furent employés dans les expériences de neutralisation; pour le poison C, 0,6 ccm au lieu de 0,1 ccm pour le poison 471. Il faudra donc multiplier les chiffres de la dose mortelle dans les expériences de neutralisation de ces poisons par 21, ou par 6 pour les comparer aux autres chiffres. Nous n'avons pas exécuté ce calcul dans les tableaux IV et VI. Mais afin de pouvoir comparer la dose mortelle pour $n=0$ (des tableaux III et V) aux autres déterminations (expériences de neutralisation) tabl. IV et VI, les valeurs empruntées aux tabl. III et VI pour $n=0$ ont été divisées par 21, resp. par 6, avant d'être incérées dans les tableaux IV et VI.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Infektion der *Anopheles claviger* mit Malariaparasiten bei niederer Temperatur.

[Aus der med. Klinik des Herrn Hofrat Prof. S. Purjesz in Kolozsvár.]

Von Dr. Nikolaus Janesó, Dozent.

Die bereits seit langem bekannten bedeutenden Schwankungen der Malaria-Endemieen in den verschiedenen Jahreszeiten hatten Grassi früh genug auf den Gedanken gebracht, daß die Temperatur von großem Einflusse auf die Entwicklung der Malariaparasiten in den *Anopheles* sein müsse. Seine Untersuchungen bestätigten dies und führten zugleich zu dem Ergebnisse, daß von großer Wichtigkeit besonders die Temperatur ist, in welcher sich die *Anopheles* unmittelbar nachdem sie sich mit Blut vollgesogen haben, aufhalten.

In seiner „Die Malaria“ betitelten Arbeit lesen wir: „In unseren am 23. Dezember 1898 veröffentlichten Nota steht geschrieben: „Eine Reihe von den ersten Tagen des November herrührende Daten läßt uns vermuten, daß man bei einer Temperatur von 14–15° in den ersten Stunden nach dem Stiche die Entwicklung der Hämosporidien nicht erzielen könne. Eine Entwicklung ist dagegen gewiß, wenn man die *An. claviger* bei einer Temperatur von 20–22° hält“ etc. „Die Notwendigkeit einer angenommenen Temperatur ist hauptsächlich für die ersten Modifikationen, welchen der Halbmond im Lumen des *Anopheles*-Darmes unterworfen ist, augenscheinlich.“

„Ein jeder begreift die epidemiologische Wichtigkeit der oben erwähnten Bedingungen.“

Mit Rücksicht auf die große epidemiologische Wichtigkeit gerade dieses Umstandes hält Grassi es für notwendig, noch recht viele auf den Einfluß der Temperatur bezügliche Untersuchungen durchzuführen.

Darum ergänzt er seine älteren Untersuchungen an dieser Stelle noch durch folgende:

Bei drei Gelegenheiten überbringt er die *Anopheles* unmittelbar nach dem Stiche in einen Refrigerator, in welchem am Versuchstage die Temperatur nicht unter $15,5^{\circ}$ C sank und nicht über $17,5^{\circ}$ C stieg.

Die *Anopheles* wurden nicht — weder durch Tertian- noch durch Halbmondgameten — infiziert. Darum sagt er, daß „die Entwicklung der Tertian- und der Halbmonde in einer von $15,5^{\circ}$ C zu $17,5^{\circ}$ C schwankenden Temperatur nicht vor sich gehen kann“. Seine weiteren Experimente zeigen, daß „wenn einmal die Entwicklung des Parasiten in den Darmwänden angefangen, die Temperatur ohne Gefahr heruntergehen kann, wenigstens bis $11-9^{\circ}$ C“. Nur die auf die Quartana bezüglichen Experimente ergaben ein anderes Resultat, da es ihm gelang, dieselben auch bei $16,5^{\circ}$ C in den *Anopheles* zu züchten.

Andererseits gelangt er auf Grund seiner Experimente zu dem Ergebnis, daß sich die Tertianparasiten der *Anopheles* auch noch bei einer Temperatur, bei welcher es die Halbmonde nicht mehr können, entwickeln.

Er läßt einen Patienten, in dessen Blute Tertian- und Halbmondgameten zugleich vorhanden waren, von *Anopheles* stechen, und hält dieselben bei verschiedenen Temperaturen, wobei er sah, daß die bei niederen Temperaturen gehaltenen bloß durch Tertiangameten, wogegen die bei höheren Temperaturen gehaltenen auch durch Halbmonde infiziert wurden. Den Grund hierfür findet er darin, daß die vorerwähnten *Anopheles* in den Stunden nach dem Stiche einer niedrigen Temperatur ausgesetzt waren.

Nach Grassi besitzt also die Temperatur in den ersten Stunden nach dem Stiche elektive Wirkung — was von großer epidemiologischer Bedeutung ist.

Daß sich die *Anopheles* bei sehr niedrigen Temperaturen nicht infizieren, glaubt Grassi auf die Ursache zurückführen zu können, daß bei diesen niederen Temperaturen die Geißeln sich nicht bilden.

„Es ist schon seit langem bekannt, daß man im Winter selten die Bildung der Geißelkörper der Halbmonde sieht, wenn man aber das kaum gemachte Präparat in einen Thermostat bringt, kann man die Bildung der Geißeln in jeder Jahreszeit beobachten.“

„Vermutlich entspricht, wie bereits erwähnt, der Moment, in welchem die Temperatur die Entwicklung der Parasiten hindern kann, der Geißelbildung, vielleicht bis zum Würmchenstadium.“

An einer anderen Stelle sagt er: „Meiner Meinung nach wird die Geißelbildung und die Befruchtung durch eine zu niedrige Temperatur verhindert. Andererseits aber kann dieselbe unbeanstandet bis zu einem gewissen Punkte heruntergehen, nachdem die Befruchtung stattgefunden hat (und das Würmchen gebildet ist?). Deshalb glaube ich, daß um feststellen zu können, ob die verschiedenen Malariaparasiten einen verschiedenen minimalen Wärmegrad zu ihrer Entwicklung im *Anopheles*-Darme brauchen, es notwendig ist, die niedrigste Temperatur zu studieren, bei welcher sich die Geißeln bilden können.“

Darum läßt er durch Martirano in seinem Laboratorium geeignete Untersuchungen durchführen, deren Resultat war: „Die Geißelbildung wurde niemals wahrgenommen bei einer unter 17° C stehenden Temperatur, trotzdem die Beobachtungen der betreffenden Präparate mehrere Stunden lang fortgesetzt wurden.“

„Bei 18° C sah man nach etwa 25—30 Min. die Geißelbildung bei mehreren Halbmonden auftreten. Zwischen 18 und 20° C rundeten

sich nach 20—30 Min. zahlreiche Halbmonde ab und zeigten Geißelbildung.“

Demnach beweisen Grassis Experimente, daß, wenn die *Anopheles* unmittelbar nach dem Stiche in eine Temperatur gelangen, die niedriger ist als 16,5° C, sich die Gameten nicht einer einzigen Art der Malaria-Parasiten weiter entwickeln und die *Anopheles* nicht infiziert werden.

Seine Experimente bewiesen andererseits, daß die Temperatur der ersten Stunden nach dem Stiche elektiv wirken kann, denn die einzelnen Arten der Malariaparasiten beginnen sich bei verschiedenen niedrigsten Temperaturen zu entwickeln; die Quartana entwickelt sich noch bei 16,5°, die Tertiana nur bei Temperaturen über 17,5°, die Halbmonde hingegen nur bei Temperaturen über 18° C.

Diese Beobachtungen Grassis werden auch durch Experimente mehrerer Autoren bestätigt. So durch Ross in Bezug auf die Malaria der Vögel¹⁾.

Van der Scheer und Bernedis v. Berlekom²⁾ in Middelburg machten folgende Beobachtungen: In 3 *Anopheles*, die am selben Tage, an welchem sie von einem Tertianakranken Blut gesogen, bei einer Temperatur von 14,5—16,5° C gehalten wurden, wurde Cystenentwicklung nicht beobachtet. Von 5 *Anopheles*, welche in der darauffolgenden Nacht bei 18—21,5° C Blut gesogen hatten, wurden 4 infiziert.

Schoo fand von 26 *Anopheles*, die bei 15° C gehalten wurden, nach 12 Tagen keine infiziert. Hingegen fand er, daß bereits bei 18° C nach 18 Tagen die Sporocysten der Tertiana reif waren.

Auch er bestätigt, daß wenn die Entwicklung der Kapseln am *Anopheles*-Magen begonnen hat, sich dieselben weiterbilden, auch wenn die Temperatur durch längere Zeit sogar bis 10° C herabsinkt.

Dieselben Angaben finden wir in Ruges Handbuch der pathogenen Mikroorganismen im Kapitel über Malariaparasiten, so auch in der Vorlesung F. Loefflers: „Die Malariakrankheiten“ in der deutschen Klinik, als Beweis dafür, daß der niedrige Wärme-grad der ersten Stunden nach dem Stiche die Infektion der *Anopheles* verhindert.

Mit Rücksicht auf die große epidemiologische Bedeutung dieses Umstandes, die auch von Grassi betont wird, bestreben auch wir uns, anläßlich unserer im verflossenen Jahre durchgeführten Untersuchungen vielfach einschlägige Experimente anzustellen, um uns von der Stichhaltigkeit der angeführten Angaben zu überzeugen.

Wir verfahren bei diesen Experimenten folgendermaßen: Die *Anopheles* wurden nach dem Stiche im Brutapparate, Kellerlokale, Eisschranke gehalten, wo das entsprechend angebrachte Thermometer jede 2. Stunde abgelesen wurde.

Anfangs ließen wir die *Anopheles* durch von uns konstruierte und an den Kranken angelegte Tüllkäfige Blut saugen, da jedoch dabei $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde verging, bis die Mehrzahl der *Anopheles* anstechen, benutzten wir später bei unseren Experimenten Eproutetten, mit welchen wir die *Anopheles* einzeln auf den Kranken brachten, und im Momente, als sich dieselben vollgesogen, wurden sie in den im Thermostat oder Eisschrank schon vorher eingestellten Tüllkäfig hineingelassen.

1) Ross: Infection of birds with Proteosoma by the bites of mosquitoes.

2) Van der Scheer and Berlekom: Malaria and Mosquitos in Zeeland. (Brit. Med. Journal. 1901.)

1) 23. Okt. Von M. Illes, dessen Blut Praecoxgameten in großer Anzahl enthielt, saugen bei einer Temperatur von 31° C 10 *Anopheles claviger* eine halbe Stunde lang durch die Tüllhülle des Käfigs und werden darauf im Eisschrank bei 13° eingestellt.

4 *Anopheles* bleiben während 7 Stunden da, dann werden sie im Brutapparat bei 30° C gehalten.

Am 5. Tage erweisen sich von 4 zwei infiziert mit 13—17 μ großen Oocysten, die ganz normal aussehen.

Die anderen 6 *Anopheles* bleiben 22 Stunden lang im Eisschrank bei 13° C und erst dann werden sie bei 24° C gehalten.

Am 6. Tage nach dem Blutsaugen sind 3 von diesen infiziert, und zwar einer kaum mit einigen, die übrigen zwei mit sehr zahlreichen, 6—8 μ großen Oocysten.

2) 21. Okt. Von M. Potor, dessen Blut auch viele Halbmonde enthält, lassen wir *Anopheles* aus dem Käfige bei 30° C eine halbe Stunde lang Blut saugen, hierauf stellten wir sie in den Eisschrank bei 11° C.

Von diesen *Anopheles* werden 10 nach 6 Stunden bei 30° C gehalten; am 6. Tage nach dem Blutsaugen erweisen sich 4 mit 22—28 μ großen Sporozoitoblasten infiziert, darunter einer sehr dicht.

Die übrigen 6 *Anopheles* verbleiben 8 Stunden lang in dem Eiskasten bei 11° C, am 6. Tage ist von diesen bloß einer infiziert.

3) 18. Sept. Von P. Rus, ebenfalls mit Halbmonden im Blute, saugen *Anopheles* Blut und werden sofort in den Eisschrank bei 11° C hineingestellt.

Einen Teil derselben lassen wir bloß 8 Stunden lang im Eisschrank, dann werden dieselben im Brutapparate bei 30° C gehalten; der andere Teil bleibt 10 Tage lang im Eisschrank, woselbst die Temperatur 11 bis 13° C betrug.

Im einem *Anopheles* aus der ersten Gruppe waren am 10. Tage nach dem Blutsaugen 44 μ große Sporozoitoblasten zu finden. Von den 13, die durch 10 Tage im Eisschrank gehalten wurden, war keiner infiziert.

Von 12 *Anopheles*, die zu derselben Zeit Blut saugen, jedoch nicht in dem Eiskasten, sondern sogleich bei 30° C gehalten wurden, erwiesen sich 8 infiziert.

Da unsere Resultate dem von Grassi und Roos betonten kardinalen Grundsätze: daß die *Anopheles* bei Temperaturen unter 16° C in den ersten Stunden nach dem Stiche nicht infiziert werden, widersprachen, waren wir bestrebt, noch eine eventuelle Fehlerquelle aus unseren Experimenten auszuschließen. Da nämlich beim Blutsaugen aus dem Käfige auch eine halbe Stunde verging, bis die *Anopheles*, nachdem sie Blut gesogen haben, in den Eisschrank gelangten, verfahren wir bei unseren weiteren Versuchen so, daß wir die *Anopheles* aus Eprouvetten Blut saugen ließen, worauf sie dann sogleich in den im Eisschrank schon früher eingestellten Käfig untergebracht wurden.

4) 23. Aug. Von J. Fodor, dessen Blut sehr zahlreiche *Haemamoeba*-Praecoxgameten enthielt, lassen wir 5 *Anopheles* einzeln aus Eprouvetten Blut saugen, gleich danach werden sie in den im Eisschrank stehenden Käfig bei 13° C gestellt. Hier bleiben sie 2 Stunden lang und werden dann bei 22° C gehalten.

Am 4. Tage nach dem Blutsaugen erweist sich nach Abtötung aller 5 nur 1 Stück mit 6—9 μ großen, ganz normalen Oocysten infiziert.

Von 8 *Anopheles*, die mit den vorigen zugleich Blut saugen, jedoch

ohne in den Eiskasten zu kommen und bei 30° C gehalten wurden, wurde auch nur 1 infiziert.

5) 18. Sept. Von J. Füzési lassen wir 4 *Anopheles* aus Eprouvetten Blut saugen und stellen sie gleich in den Eisschrank bei 13° C. Hier stehen sie 22 Stunden lang, danach werden sie 24 Stunden bei 22° C gehalten, nach Ablauf dieser Zeit kommen sie in den Eisschrank bei 10° C, wo sie 12 Stunden lang bleiben, dann stehen sie wieder bei 22° C.

Am 12. Tage nach dem Blutsaugen leben nur 2, von diesen waren in einem 1, im anderen 12 Stück 30 μ große, vollkommen normale Sporozoitoblasten zu finden.

6) 23. Sept. Abermals von J. Füzési saugen *Anopheles* Blut und werden 2 Tage im Brutapparate bei 30° C gehalten, nach 48 Stunden jedoch wieder bei 8° C in den Eisschrank gestellt. Hier stehen sie bis zum 30. Sept., worauf sie wieder bei 30° C zurückgestellt werden.

Am 5. Okt. leben 5, keiner ist infiziert. Von 7, die zur gleichen Zeit Blut saugten, jedoch ohne in den Eisschrank zu kommen, ebenfalls bei 30° C gehalten wurden, fanden wir 3 infiziert.

7) 18. Sept. Von J. Füzési saugen *Anopheles* Blut und werden bei 21° C gehalten. Hier bleiben sie 4mal 24 Stunden und werden dann bei 8° C in den Eisschrank gestellt, wo sie wieder 4 Tage lang stehen, worauf sie bei 20° C gehalten werden.

Am 11. Tage nach dem Stiche wird einer getötet; am Magen desselben waren 40–50 Stück 7–9 μ große, normal erscheinende Oocysten zu finden. Darauf werden die übrigen wieder in den Eisschrank bei 8° C zurückgestellt bis zum 4. Okt. abends. In den jetzt Getöteten fanden sich viele 11 μ große, normal aussehende Oocysten, viele 7 μ große degenerierte Oocysten und wenige noch würmchenförmige Oookynten, die sich soeben durchgebohrt hatten.

8) Von M. Izzo, mit Tertianagameten im Blute, saugt ein *Anopheles* aus einer Eprouvette Blut und wird sofort in den Eisschrank bei 11° C gestellt, hier bleibt er 22 Stunden lang und wird dann bei 21° C gehalten.

Am 6. Tage nach Abtötung desselben fanden wir am Magen 6 Stück 7 μ große Oocysten.

9) 2. Nov. Von J. Mäthe, mit viel Tertianagameten im Blute, lassen wir 16 *Anopheles* Blut saugen, worauf sie gleich bei 13° C gehalten werden, hier bleiben sie 4 Tage, darauf werden 7 bei 22° C gestellt, die übrigen werden bei 13° C bis zum 14. Tage gelassen.

Am 14. Tage werden beide Gruppen getötet; kein einziger ist infiziert. Von 40 *Anopheles* dagegen, die zu derselben Zeit Blut saugen und gleich bei 20° C gehalten wurden, fanden wir 26 infiziert.

Unsere Experimente zeigen also, daß die Infektion der *Anopheles* sowohl durch Tertiana- als durch Halbmondgameten zu stande kommt, auch wenn die Temperatur der ersten Stunden nach dem Stiche viel niedriger als 16° C ist, nur müssen die *Anopheles* später in eine höher temperierte Umgebung kommen.

Die von uns mit der größten Umsicht durchgeführten Experimente zeigten, daß die *Anopheles* sowohl durch Tertianagameten, als durch Halbmonde infiziert wurden, wenn sie vom Momente des Blutsaugens auch 24 Stunden lang bei 13–11° C gehalten und erst dann in eine Temperatur von 20–30° C gelangten. Und nur dann kam die Infektion

der *Anopheles* durch Gameten dieser Art nicht zu stande, wenn die *Anopheles* mehrere Tage lang bei solch niederer Temperatur gehalten wurden.

Unser Experiment No. 6 gestattet die Schlußfolgerung, daß vielmehr als den ersten Stunden nach dem Blutsaugen demjenigen Zeitpunkt Wichtigkeit beizumessen ist, in welchem das gesogene Blut bereits verdaut und die Ookyneten im Durchbohren begriffen sind. Bei diesem Versuche wenigstens dürften sich die Gameten im *Anopheles*-Magen ungefähr in diesem Entwicklungsstadium befunden haben, und die Infektion der *Anopheles* kam nicht zu stande, da dieselben eben in diesem Zeitpunkte für mehrere Tage bei 11° C in den Eisschrank gestellt wurden.

Ob die Infektion der *Anopheles* zu stande kommt, wenn die Temperatur der ersten Stunden nach dem Stiche noch niedriger ist als 10° C, daraufhin haben wir keine Untersuchungen angestellt.

Natürlich sind nun auch Grassi's Schlußfolgerungen, daß nämlich Temperaturen unter 16° C in den ersten Stunden nach dem Stiche die Geißelbildung und dadurch die Befruchtung der Makrogameten verhindern, welche er auf Grund seiner Experimente betont — unhaltbar. Unsere Experimente scheinen dafür zu sprechen, daß die Befruchtung auch bei Temperaturen tief unter 16° C zu stande kommt, wenn auch vielleicht nicht im Deckglaspräparat, so doch im *Anopheles*, wo die Abkühlung des Blutes im Magen keineswegs so rasch erfolgt. Oder es ist möglich, daß die Geißelbildung auch bei diesen niederen Temperaturen zu stande kommt.

Andererseits müssen wir auf Grund unserer Experimente die Auffassung Grassi's besonders zur Erklärung der epidemiologischen Verhältnisse der Malaria, welche auch andere Forscher zu teilen geneigt sind, für irrtümlich halten, die Auffassung nämlich, daß die Temperaturansprüche der einzelnen Parasitenarten verschieden sind und daß besonders die in den ersten Stunden nach dem Stiche herrschende Temperatur darüber entscheiden würde, ob die Infektion der *Anopheles* durch irgend eine Parasitenart zu stande kommen kann oder nicht. Unsere Untersuchungen zeigten, daß wenn der Temperatur auch eine derartige elektive Rolle zukäme, dies bei viel niedrigeren Wärmegraden der Fall sein müßte, als dies von Grassi angenommen wurde.

So wie Grassi betonen auch wir die epidemiologische Wichtigkeit dieser Angaben. Bei uns in Koložsvár, wo die Malaria epidemisch herrscht, und wir in den Frühlingsmonaten schon viel neue Infektionen beobachten, erreicht die Endemie ihren Höhepunkt im September, und doch sind die Abende sowohl im Frühjahr als auch im September kühl, sonach ist die Temperatur im Freien als auch in geschlossenen Räumen zu niedrig dazu, daß sich an solchen Abenden blutsaugende *Anopheles* infizieren könnten, wenn die von Grassi festgestellte Temperatur dazu notwendig wäre, daß die Infektion zu stande komme. Unsere Untersuchungen erklären diese epidemiologische Eigenart zur Genüge. Die *Anopheles* werden infiziert, wenn sie auch noch nach Stunden, ja nach Ablauf eines Tages, in höhere Temperaturen gelangen, welche sowohl im Frühjahr als auch im Herbst in den Tagesstunden gegeben sind.

Hat jedoch die Infektion der *Anopheles* einmal bereits stattgefunden, dann wird die Weiterentwicklung der Cysten durch eine kurze Zeit dauernde niedrige Temperatur nicht verhindert.

Nachdruck verboten.

Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

[2. Mémoire.]

La maladie vaccinale et son parasite (*Plasmodium vaccinae*).

Par **F. J. Bosc**, Professeur à l'université de Montpellier.

Avec 2 planches.

I. Etude générale des symptômes.

Pour se faire une idée complète de la maladie vaccinale il faudrait en poursuivre l'étude non seulement chez les animaux partiellement réfractaires, mais chez le cheval qui, animal sensible par excellence, en est le terrain d'origine et chez lequel elle évolue spontanément comme une maladie infectieuse aiguë, à éruption généralisée, similaire de la clavelée pour le mouton, de la variole pour l'espèce humaine.

A. Infection vaccinale spontanée (horse-pox).

Le horse-pox, infection vaccinale d'origine, évolue avec une éruption généralisée et des phénomènes généraux peu graves. Il est probable qu'elle est transmise par les voies respiratoires (nos inoculations intratrachéales de vaccin au lapin ayant permis d'obtenir des résultats positifs).

Après une incubation imprécise, vient une période prééruptive avec ligère élévation de température. La période éruptive est caractérisée par une éruption aux muqueuses et à la peau. La muqueuse buccale présente de l'hypémie suivie de macules d'un rouge sombre, puis de papules qui se transforment bientôt en vésico-papules rondes, opalines, dures, douloureuses, siégeant sur les gencives, la face interne des joues et le bord des lèvres. Sur la muqueuse génitale plus lâche, elles, peuvent atteindre le diamètre d'une pièce de vingt centimes et sont moins dures. L'éruption à la peau progresse de la face vers les parties postérieures du corps; elle débute par de petites saillies dures et un peu aplaties, du volume d'un grain de chenevis à un petit pois, se vésiculisent à leur partie supérieure puis s'ombiliquent. A cette phase d'induration ou d'accroissement fait suite une phase de sécrétion ou de ramollissement qui dure 3 à 4 jours; il s'écoule une lymphe citrine qui forme une croûte au dessous de laquelle se fait une regression puis une élimination totales du nodule, avec cicatrisation consécutive. La phase d'élimination, au niveau des muqueuses, est plus rapide qu'à la peau; elle entraîne la formation d'une ulcération qui, aux lèvres, prend un aspect cratériforme. avec des bords durs, surélevés, taillés à pic, tandis que les papules molles de la muqueuse génitale s'exulcèrent sous forme de larges érosions circulaires. Au voisinage de l'éruption, les lymphatiques deviennent volumineux et durs et aboutissent à des ganglions dont l'hypertrophie peut être considérable. Les ganglions sous-maxillaires et axillaires roulent sous le doigt et sont indurés, comme dans la clavelée. Les phénomènes généraux sont peu marqués: tristesse, abattement, anorexie. L'évolution de l'éruption se fait en une vingtaine de jours; ordinairement progressive, elle peut se faire par poussées irrégulières. L'évolution de la maladie dure 25 jours et comprend: une période d'incubation de 2 à 3 jours, une période prééruptive de trois jours et une période éruptive avec cicatrisation d'une vingtaine de jours. La période d'éruption se décompose en une phase d'induration (4 jours), une phase de sécrétion (5 à 6 jours), une phase de regression avec arrêt de l'accroissement cellulaire, suivie d'élimination et de cicatrisation (une douzaine de jours).

B. Infection vaccinale par inoculation accidentelle (cow-pox).

Le cow-pox ne paraît pas être une vaccine spontanée mais être consécutive à une inoculation accidentelle de horse pox: il est constitué, en effet, par une éruption localisée aux mamelles et, si cette éruption

peut parfois se généraliser, elle a toujours en son point de départ au niveau des trayons.

On voit apparaître, sur les trayons puis sur la mamelle des tâches avec légère induration profonde, puis des papules, qui augmentent de volume et forment des nodules durs entourés ou non d'une aréole rouge. Ces nodules atteignent leur développement en 4 jours (Koempffen) et reposent sur une base dermique indurée. A partir du 5^e au 6 jour, le sommet de l'élément se ramollit et il se forme une vésicule qui s'étale, prend une couleur nacréée ou azurée puis blanc sale, demeure arrondie ou s'ombilique. La papulo-vésicule, au cours de la période de ramollissement, se revêt d'une croûte adhérente qui s'épaissit et tombe lorsque la regression de l'élément éruptif est totale et laisse voir un bourgeonnement conjonctif suivi, en une dizaine de jours, d'une réparation avec cicatrice fibreuse et blanche consécutive. Dans le cas où la vésicule s'infecte il se produit une pustule volumineuse qui donne lieu à une ulcération plus profonde du derme.

L'évolution de l'élément éruptif se fait en une vingtaine de jours. Comme pour le horse-pox, on note une phase d'édification ou d'induration, une phase de sécrétion, une phase de regression et d'élimination totale de la néoformation, enfin une phase terminale de cicatrisation.

C. Infection vaccinale expérimentale.

Le vaccin est inoculable non seulement au cheval et à la génisse mais encore à l'homme, au singe, au lapin, au chien, à la chèvre, au cobaye . . . etc.

En général l'inoculation de vaccin ne détermine chez tous ces animaux, sauf chez le poulain, qu'une pustule au point d'inoculation, sans éruption généralisée et, d'après les auteurs, l'inoculation cutanée serait seule positive. En réalité, l'inoculation vaccinale peut être suivie d'éruption généralisée chez l'enfant, le veau, la génisse et d'autre part, nous avons produit de belles pustules vaccinales d'inoculation du poumon chez le lapin, de même que Chaumier et Rehns en ont produit dans la mamelle (57).

1^o Inoculation cutanée. — Chez le poulain, elle peut produire une éruption généralisée qui ne diffère pas du horse-pox. Chez la génisse, l'inoculation ne produit en général qu'une pustule au point d'introduction du vaccin; Pourquier a vu toutefois (communication orale) une éruption généralisée intense se produire chez une génisse qui avait lèché un linge souillé de vaccin (muqueuse de type épidermique).

Chez le lapin, Gailleton, puis Bard et Leclerc, ont montré que l'inoculation cutanée donne de belles pustules virulentes. D'après Calmette et Guérin (38) en appliquant du vaccin sur lapeau simplement rasée, on obtient un véritable placard de vésico-papules.

Pour l'étude précise des lésions et des parasites nous avons cherché à obtenir des pustules cutanées dures et volumineuses; pour cela, nous inoculons du virus par scarification très superficielle du rebord des narines, du rebord labial. Chez les lapins bous vaccinifères on obtient, en ces points, des pustules faciles à enlever et qui atteignent le volume d'un gros grain de chenevis à un petit pois. Quarante huit heures après l'inoculation apparaît une petite papule rosée et, au 3 jour, une papule grisâtre, boutonneuse, dure, qui augmente de volume sur une base dermique nettement indurée. Elle se vésiculise, à son sommet du 3^e au 4^e jour et atteint son volume maximum au 5^e. A partir de ce moment, elle est encore dure profondément mais cesse de s'accroître et cet arrêt est en rapport avec l'apparition de l'immunité (6^e jour). Elle présente une croûte gris jaunâtre qui s'étend et s'épaissit à mesure que s'effectue le ramollissement de la lésion. La regression totale de la vésico-papule est terminée du 8^e au 9^e jour et la croûte tombe vers le 12^e, laissant voir une surface tomenteuse, gris rosée, qui se transforme en une cicatrice blanche persistante.

Chez l'enfant, l'élément vaccinal a une évolution bien différente suivant que le vaccin est inoculé pur ou infecté. Dans la vaccination de bras à bras, on inocule des germes pyogènes virulents qui font d'énormes pustules avec de la lymphangite et parfois des phénomènes

infectieux graves. De même la vaccination avec la lymphe prélevée directement sur la génisse et susceptible de renfermer des germes bactériens de haute virulence, peut provoquer des accidents infectieux sévères et même mortels. Il est donc prudent de ne se servir pour vacciner les enfants que de pulpes vaccinales conservées assez longtemps en glycérine pour que l'atténuation ou la mort des microbes les ait rendues inoffensives.

L'inoculation de vaccin pur produit, chez l'enfant, non une pustule mais une vésico-papule, des phénomènes généraux peu intenses et rarement une éruption généralisée.

Le 2^e jour apparaît une macule rose de 2 à 3 mm de diamètre qui devient papule à la fin du 2^e jour et le plus souvent au commencement du 3^e; au 4^e jour elle est du volume d'un grain de millet, dure, rouge, avec une petite vésicule apparente qui a débuté réellement à la fin du 3^e jour et est bien marquée au cinquième. Au cours du 5^e jour, la papulo-vésicule, qui repose sur une base indurée, présente une dépression ombilicale centrale entourée d'une zone bleuâtre à reflets nacrés (zone lymphogène) et d'une petite aréole rose. La vésicule atteint son maximum au 7^e jour; ses bords entourés d'une aréole rouge reposent sur une induration forte du derme et limitent une zone lymphogène transparente et nacrée. A cette phase d'induration avec vésiculation centrale fait suite la phase de ramollissement qui débute au 8^e jour: l'induration profonde ne forme plus un rebord net mais s'étale et devient plus molle. Au 9^e jour la zone lymphogène prend un aspect bosselé, sa partie centrale devient croûteuse. Du 10^e au 13^e jour, la croûte s'accroît du centre à la périphérie, la zone lymphogène se flétrit, sans s'ulcérer, l'aréole pâlit, et l'induration fait place à un ramollissement œdémateux. La croûte devenue épaisse et noirâtre recouvre toute la zone lymphogène, et tombe vers le 25^e jour laissant une cicatrice assez longtemps rougeâtre puis blanche, gaufrée, indélébile. L'évolution de la lésion vaccinale pure s'accompagne d'un gonflement des lymphatiques et d'une hypertrophie dure des ganglions.

Les phénomènes généraux se marquent par un peu de diarrhée et d'anorexie. Les observations montrent que la température s'élève progressivement du 4^e au 7^e ou 8^e jour à 38 à 38,5 et même 40°, dans le rectum, pour revenir à la normale au 10. Le début de la fièvre coïncide avec le début de la vésiculation; cette fièvre se maintient pendant toute la période d'accroissement de la papule et descend à partir du moment où s'arrête la prolifération. On peut donc dire que la fièvre débute à partir du passage du virus dans le sang (la vésiculations le mettant en liberté) et persiste pendant toute la période d'activité du virus.

Nous insistons sur une évolution spéciale que peut présenter, chez l'enfant, la vésico-papule d'inoculation. Elle peut devenir très dure, augmenter de volume et constituer le pseudo-chancro vaccinal qui, d'après Leloir, apparaît du 9^e au 15^e jour, présente une ulcération arrondie du diamètre d'une pièce de cinquante centimes, avec une base volumineuse et très indurée et s'accompagne d'une adénopathie de type syphilitique. C'est là la vaccine chancroforme qui évolue chez des enfants bien portants et sans hérédité syphilitique.

Nous avons montré (43) que la pustule de clavelée peut également devenir très dure, évoluer lentement, avec une exulcération superficielle, s'accompagner de gros cordons lymphatiques indurés et de ganglions fortement hypertrophiés non douloureux, roulant sous le doigt de dureté ligneuse — c'est à dire revêtir les caractères du chancro et de l'adénopathie syphilitiques.

2) Inoculation à la cornée. — Elle est facile chez le lapin et le cobaye. L'oeil, maintenu ouvert par un blépharostat, est lavé à l'eau salée physiologique stérilisée; on inocule du virus pur par scarifications légères ou par une piqûre faite parallèlement à la surface de la cornée et dans les couches superficielles.

Il est difficile de retrouver le point d'inoculation avant la 12^e heure, s'il n'y a pas eu infection microbienne. Après 24 heures, tâche opalescente, arrondie; après 36 et surtout 48 heures, petite nodosité du volume d'un grain de mil, autour de la quelle

Guarnieri (5) avait noté de petits points miliaires. Du 4^e au 5^e jour, se produit une ulcération qui creuse peu à peu l'épaisseur de la pustule, s'entoure d'un cercle opaque et se répare, laissant un leucome. L'hypopion indiqué par Pfeiffer marque une infection microbienne.

3) Inoculation intratrachéale et intrapulmonaire. Ces inoculations de vaccin pur, chez le lapin, nous ont donné des pustules vaccinales pulmonaires isolées ou agminées de virulence démontrée par l'expérimentation. Nous indiquerons plus loin, avec l'étude des lésions, notre manière de procéder et nous donnerons une étude détaillée des lésions macroscopiques et histologiques. Disons, dès maintenant, que les nodules vaccinaux ressemblent exactement aux nodules claveux du poumon et par leur aspect et par leur structure histologique; ils ne peuvent pas être confondus avec des lésions de broncho-pneumonie banale. Pourquier (communication orale) a obtenu une belle éruption généralisée, chez le veau, après inoculation intratrachéale de vaccin.

4) Inoculation intrapéritonéale. — Chez le lapin sain, elles ne nous ont rien donné. Si l'on injecte du vaccin microbien on produit un exsudat louche à polynucléaires très abondants, avec perte rapide de la virulence.

5) Inoculation intracérébrale. — Calmette et Guérin ont inoculé du vaccin dans le cerveau. Un fragment de cerveau prélevé au 4^e jour, broyé et étalé sur le dos fraîchement rasé d'un lapin, développe une éruption dont l'authenticité a été démontrée par l'échec d'une vaccination ultérieure. L'immunité est obtenue le 6^e jour après l'inoculation (38).

6) Inoculation intraveineuse. Nous n'en avons point pratiqué: Chez les animaux autres que le poulain, l'inoculation de virus dans les vaisseaux produit simplement un état réfractaire. Il est probable que, chez le poulain, où il se produit une éruption généralisée, il doit exister des localisations de pustules dans les divers organes, mais elles n'ont pas été constatées.

En somme l'étude de la maladie vaccinale a été faite surtout chez des animaux de sensibilité réduite. Malgré les quelques résultats obtenus, on n'arrivera à une connaissance précise de cette maladie qu'en reprenant l'étude expérimentale, chez le poulain, seul animal réellement sensible, de même que pour arriver à la connaissance de la clavelée nous avons étudié cette maladie non chez le mouton algérien mais chez l'agneau caussenard extrêmement sensible.

II. Etude des lésions.

Dans la maladie vaccinale spontanée (horse-pox), les lésions caractéristiques sont représentées par de petites tumeurs nodulaires distribuées à la peau et aux muqueuses; on ne sait rien sur les lésions possibles des organes. Nos expériences sur le lapin nous ont montré que l'on peut produire, chez cet animal, des lésions vaccinales nodulaires typiques du poumon, de sorte qu'il nous sera possible de déterminer le mode d'action du virus non seulement à la peau mais aux parenchymes.

Technique. — Pour observer les lésions vraies produites par le parasite vaccinal il est nécessaire d'éviter toute action phlegmasique microbienne. Après asepsie de la région à inoculer, on inocule un vaccin bactériologiquement pur tel que celui que nous avons pu obtenir grâce à la très grande obligeance du D^r St. Yves-Ménard. La technique histologique est d'une extrême importance pour la connaissance exacte des lésions: il est nécessaire d'employer des fixations parfaites qui donneront des détails

de rapport et de structure les plus conformes à la réalité et qui seront comme des "préparation-étalon" auxquelles on comparera les préparations obtenues par d'autres méthodes moins bonnes mais permettant des élections de coloration importantes. La fixation de petits fragments d'organes vivants dans le Flemming fort, avec coloration par la safranine suivie de picro-indigo-carmin, est la méthode par excellence, la méthode-étalon; les fixations par le sublimé, le Zenker, le Tellyesniczky, le formol suivies de colorations par l'hématéine-eosine, l'hématoxyline ferrique et le van Gieson, le liquide d'Ehrlich . . . constitueront des méthodes adjuvantes. Nous renvoyons pour l'exposé de cette technique à notre récent mémoire sur la clavelée (52). Depuis cette publication nous avons en outre mis en œuvre, quelques nouveaux procédés, tels le procédé de la goutte, par lequel on laisse tomber dans le fixateur une grosse goutte ou plusieurs gouttes de lymphé, de pulpe, de raclage . . . etc. En outre, nous avons appliqué à l'étude de la vaccine, la méthode de Mann que nous décrirons avec l'étude des inclusions.

Nous étudierons successivement: l'étude des pustules cornéennes et cutanées, les pustules pulmonaires, des lésions ganglionnaires et des lésions du sang.

1. Pustule de la cornée¹⁾.

L'examen histologique du nodule cornéen dont nous avons déjà indiqué l'évolution macroscopique, montre, dès la 12^e heure, la formation d'un foyer vaccinal dû à l'hyperplasie et à l'hypertrophie des cellules épithéliales.

Les cellules centrales du foyer très augmentées de volume et de plus en plus claires se déforment, par compression; certaines devenues volumineuses, globuleuses, repoussent les cellules voisines; elles constituent le début de sphérules épidermiques. Les cellules de la profondeur ont un protoplasma foncé, un noyau riche en chromatine, avec des mitoses fréquentes, parfois atypiques, ainsi que Gorini l'avait déjà observé et parfois des noyaux multiples. Le tissu lamelleux de la cornée ne présente aucune modification. Le foyer vaccinal, à son début, est donc caractérisé par une hyperactivité cellulaire épithéliale se traduisant par une hyperplasie avec mitose et par une hypertrophie du protoplasma et du noyau.

Au bout de 36 heures, la papule est formée par de nombreuses assises de cellules qui constituent une véritable petite tumeur épithéliale. Presque tout le foyer, à partir du centre, apparaît clair; il devient plus coloré à mesure que l'on va vers la périphérie (figure 23, pl. I). Le centre est en effet formé de grandes cellules claires, à membrane nette (fig. 23, pl. I), déformées par compression réciproque et désorientées surtout par la production de sphérules épidermiques (*sp*, *sp* fig. 23, pl. I). Les grandes cellules claires globuleuses que nous avons vues dans le stade précédent dépriment les cellules voisines qui prennent une forme en croissant et tendent à se kératiniser (*ke*, *ke*, fig. 23, pl. I); les cellules intermédiaires sont entraînées dans des directions différentes de sorte que la désorientation s'accroît avec le progrès de l'hypertrophie cellulaire et de la compression déterminée par les sphérules. Vers la surface, les cellules subissent une transformation cornée et deviennent lamelleuses mais à mesure que les grandes cellules claires du centre et les sphérules sont poussées, vers le haut, par la prolifération profonde, elles finissent par arriver jusqu'à la surface et y subissent une transformation kératocolloïde ou kératohydropique. Vers la basale, les cellules hypertrophiées et même des sphérules dépriment irrégulièrement le chorien (fig. 23, pl. I) et on peut observer des pointes de pénétration épithéliale dans le tissu conjonctif; mais, ainsi que Guarneri l'avait déjà fait remarquer (5), cette pénétration est due à ce que la lancette avait pénétré dans le chorien au moment de l'inoculation, et ouvert un chemin à la prolifération épithéliale. En allant vers les parties latérales du nodule, la désorientation et l'hypertrophie cellulaires vont en s'atténuant et se fondent dans un mur épais de cellules polygonales moins volumineuses mais complètement claires; celles-ci se continuent avec des cellules demi-claires et plus petites, parsemées de karyokinèses désorientées et qui vont se confondre progressivement avec une prolifération papillomateuse de cellules sombres à noyau riche en chromatine, en continuité avec l'épithélium normal. Au niveau du chorien, les espaces conjonctifs sont dilatés et les cellules fixes sont saillantes et hypertrophiées.

De la 48^e heure à la fin du 3^e jour (fig. 1, pl. I), la pustule atteint à peu près son plus grand volume. Au 3^e jour elle est constituée, dans sa plus grande étendue,

1) Le mot pustule dans le cours de ce travail n'indique qu'un élément éruptif apparent et n'est employé que pour faciliter le discours.

par d'énormes cellules au maximum de l'hypertrophie claire (a, a, fig. 1, pl. I) avec un noyau peu visible et une membrane épaisse et très colorée due à la transformation kératocolloïde des filaments de passage et du protoplasma périphérique; certaines de ces cellules devenues globuleuses (g, go, go fig. 1, pl. I) sont entourées de cellules en croissant plus ou moins aplaties, les unes sombres, en transformation cornée, d'autres claires en transformation kérato-hydropique (fig. 1, pl. I). Les cellules placées dans l'intervalle des globes sont très déformées, en dégénérescence partielle cornée ou colloïdo-cornée ou kératohydropique (fig. 1, pl. I). On note aussi des cellules enkystées avec ou sans dégénérescence colloïde. Vers les bords du foyer, les grandes cellules claires deviennent plus régulières et la zone des cellules claires polygonales est très augmentée. Cette zone des cellules claires, c'est-à-dire le foyer vaccinal proprement dit, va en diminuant d'épaisseur du centre vers les bords où elle se continue avec les cellules de plus en plus sombres et petites de la prolifération périphérique qui, en bas, la sépare du chorion et, vers la surface, la recouvre d'une épaisse couche cornée.

Dans la partie centrale du foyer, la basale a disparu et les cellules épithéliales pénètrent dans les espaces conjonctifs élargis, sous forme de pointes ou de bourgeons renfermant des globes épidermiques (fig. 1, pl. I). Ruffer et Plimmer avaient déjà noté (9) la possibilité d'un envahissement du tissu conjonctif sous-jacent par les cellules épithéliales proliférées. Dans le chorion les espaces conjonctifs dilatés sont remplis par la prolifération des cellules fixes, une formation de néocapillaires à endothélium volumineux et quelques mononucléaires. En somme, la papule au 3^e jour est constituée: par un foyer de grandes cellules épithéliales désorientées et malades qui se reproduisent à la périphérie par karyokinèse et pénètrent le tissu propre de la cornée; et par une néoformation conjonctivo-vasculaire avec légère mononucléose. La pustule constitue donc une véritable petite tumeur cellulaire néoplasique épithélio-conjonctive.

Du 3^e au 5^e jour la prolifération continue à s'accroître, mais lentement, et il se produit une vésiculation qu'il va en s'accroissant. Le protoplasma des cellules claires les plus volumineuses du milieu de la pustule, c'est-à-dire les plus anciennes, devient vacuolaire (plasmolyse) et subit une dégénérescence aqueuse totale. Ces cellules en transformation utriculaire, s'ouvrent les unes dans les autres et se désagrègent pour former une cavité à bords irréguliers séparée de l'extérieur par un mélange de cellules cornées hydropiques, de grandes cellules claires, et de globes qui s'éliminent à la fois dans la vésicule et vers l'extérieur. La vésicule s'agrandit dans tous les sens, grâce aux progrès de la dégénérescence aqueuse des grandes cellules claires, la prolifération cellulaire continuant encore à la périphérie. Le chorion infiltré par la prolifération conjonctive péri vasculaire à grandes cellules est pénétré plus profondément par les bourgeonnements épithéliaux.

Mais vers le 5^e jour, la prolifération se ralentit et bientôt s'arrête; la zone périphérique des cellules demi-claires subit une transformation cornée plus accentuée qui forme comme une sorte de coque à la pustule et l'on voit apparaître, dans le tissu conjonctif, des leucocytes polynucléaires qui augmentent rapidement en nombre, abordent l'épithélium, pénètrent dans les intestices cellulaires et arrivent dans la vésicule ouverte à la surface (ulcération).

Du 5^e au 7^e jour, le processus de régression est très actif. La prolifération périphérique étant arrêtée, la plupart des cellules de la néoformation ont subi l'hypertrophie claire qui aboutit rapidement à la dégénérescence et à la destruction vésiculeuse. Les globes et les cellules en transformation kératocolloïde ou colloïde sont entraînés dans le processus destructif qui aboutit à la disparition totale des éléments cellulaires constitutifs de la néoplasie. Les polynucléaires affluent, forment une couche épaisse dans un réseau de fibrine, à la surface de l'ulcération et infiltrent ce qui reste de la prolifération épithéliale et conjonctive. La prolifération conjonctive est formée de cellules volumineuses et claires qui avant de disparaître subissent le même processus dégénérescence aqueuse que les cellules épithéliales. Dans la profondeur, se constituera une cicatrice indélébile (leucome).

2. Pustule cutanée.

Elle comprend l'étude des coupes de pustules du lapin et l'étude de masses pulpairees provenant de l'évidement de grosses pustules de génisse.

A. Coupes de pustules cutanées du lapin. Nous avons fait des coupes de pustules de veau, de chèvre, de génisse, mais les pustules de lapin nous ont fourni le matériel d'étude les plus parfait.

Au bout de 36 heures, chez le lapin inoculé comme nous l'avons indiqué plus haut, la papule est constituée par une néoformation surtout épithéliale; le tissu conjonctif n'est encore que légèrement modifié par la dilatation des espaces conjonctifs, la prolifération et l'hypertrophie des cellules périvasculaires.

La papule au 3^e jour, montre la lésion pure et typique de la vaccine (fig. 1). Elle est formée par une prolifération cellulaire à la fois épithéliale et conjonctive qui fait saillie à l'extérieur et s'enfonce dans le derme. Tout à fait à la périphérie, l'épithélium normal prolifère par karyokinèse et donne naissance à des bourgeonnements papillomateux (*p, p* fig. 1) de plus en plus volumineux (*po, po* fig. 1) qui se fondent et constituent un large placard central dont les bords bourgeonnent dans le tissu conjonctif. Les cellules épithéliales de la prolifération papillomateuse périphérique ont un protoplasma sombre et très coloré et un noyau riche en chromatine (*a* fig. 1); elles s'hypertrophient et à mesure que l'on va vers la partie moyenne des bourgeons papillomateux elles subissent une transformation demi-claire (*b* fig. 1) puis claire (*d* fig. 1). Le processus d'hypertrophie claire s'accroît à mesure que l'on va vers la nappe centrale de sorte que le foyer vaccinal proprement dit apparaît comme une nappe claire formée de volumineux éléments désorientés (*m*, fig. 1) en desquamation cornée, à la surface *h, h*, fig. 1) et parsemée de globes épidermiques (*g, g* fig. 1). Les vaisseaux du derme sont dilatés dans un espace périvasculaire agrandi; les cellules périthéliales proliférées et hypertrophiées présentent des pointes multiples et se joignent aux cellules fixes de l'espace conjonctif qui font une saillie de plus en plus forte et s'éloignent de la trame conjonctive. Par prolifération karyokinétique, ces cellules fixes se multiplient, agrandissent l'espace périvasculaire en dissociant la trame conjonctive et en dilatant les espaces voisins; elles se réunissent par leurs prolongements et forment une trame délicate dont les mailles renferment des plasmazellen, des matzellen et quelques mononucléaires moyens. Les cellules les plus rapprochées du vaisseau, dont l'endothélium est proliféré et hypertrophié, se tassent contre sa paroi et lui forment une sorte de manchou. Ainsi se produit le nodule périvasculaire (*no, no, no* fig. 1). Si on étudie ce nodule, à un fort grossissement (fig. 5), on constate que les cellules endothéliales (*end* fig. 5) sont saillantes, volumineuses, claires, avec des karyokinèses; les grandes cellules périthéliales (*pe, pe* fig. 5) s'accollent directement, en suivant le contour du vaisseau, sur les cellules endothéliales, mais elles ont un protoplasma fibrillaire, plus coloré et elles présentent à leur face externe des prolongements multiples qui les unissent aux grandes cellules à protoplasma granuleux dont les prolongements anastomosées forment les trames de la partie centrale du nodule (*cel, cel* fig. 5). Les plasmazellen (*plu* fig. 5) qui se trouvent dans les mailles sont libres ou appuyées contre les prolongements des cellules; elles présentent un protoplasma fortement coloré, et un gros noyau excentrique à chromatine rayonnée. La trame conjonctive à peu près totalement disparue au centre (*tra*, fig. 5), reparait, à la périphérie, sous forme de travées minces, de plus en plus épaisses (*s*, fig. 5), avec, dans l'intervalle, des cellules plus petites, plus sombres, à prolongements plus courts (*g, g* fig. 5); puis les espaces conjonctifs se réduisent à des fentes dans les quelles, les cellules dépourvues de prolongements sont allongées sur la trame de sorte que l'on ne voit plus qu'un gros noyau arrondi chargé de chromatine (*h, h, h* fig. 5). Ces nodules périvasculaires s'agrandissent par pénétration dans les espaces conjonctifs voisins dont les cellules fixes entrent aussi en prolifération; en se réunissant aux voisins ils forment des nappes cellulaires traversées par de nombreux vaisseaux atteints d'endopérivascularité forte (*map* fig. 1).

Du 4^e au 5^e jour la vesico-papule est bien formée: les néoformations épithéliale et conjonctive se pénètrent intimement. Au niveau de l'épithélium, tandis que de nouveaux bourgeonnements papillomateux se produisent, à la périphérie, aux dépens des cellules normales, les anciens s'élargissent et se réunissent en amas volumineux dont les cellules ont subi à partir de leur centre la transformation claire totale avec hypertrophie et désorientation (fig. 1, pl. II); puis ils se fondent dans la nappe centrale formée d'énormes cellules qui continuent elles-mêmes à proliférer, avec des karyokinèses désorientées et très souvent atypiques. Cette formation néoplasique étendue englobe les glandes sébacées dont les cellules prolifèrent, font retour au type malpighien et subissent les transformations néoplasiques qui les confondent avec le reste de la prolifération malpighienne (*seb* fig. 1). Dans toute l'étendue de la nappe centrale, les lésions cellulaires ont atteint leur maximum de développement, avec désorientation et formation de nombreux globes épidermiques (*g, g, g, g* fig. 1). C'est vers le tiers supérieur et au centre que débute la dégénérescence des cellules qui aboutira à la formation de la vésicule (fig. 1 a pl. II, fig. 2).

À un fort grossissement, les cellules des bourgeonnements périphériques les plus récents présentent une légère hypertrophie avec des déformations dues à la compression; leur protoplasma est fortement coloré, à spongioplasma bien accusé et leur

noyau présente un réseau de chromatine plus épais et plus coloré que dans la normale; on constate des karyokinèses fréquentes, normales ou atypiques, de direction très variable; dans les points où la prolifération est la plus active, les cellules se compriment et se disposent en une sorte de bulbe d'oignon qui pénètre le tissu conjonctif comme un bourgeon arrondi. Rapidement ces cellules deviennent claires en un point de leur protoplasma, surtout autour du noyau, par transformation granuleuse du spongoplasma; ces granulations protoplasmiques deviennent de plus en plus fines, disparaissent et l'espace clair qui en résulte s'agrandit de plus en plus, du centre vers la périphérie, et présente une réfringence considérable. Le noyau est plus volumineux, arrondi, riche en chromatine mais à réseau moins serré, avec un début de nucléolyse. A mesure que le protoplasma devient plus clair, la cellule augmente de volume; elle constitue une énorme cellule complètement claire, formée par un protoplasma incolore et très réfringent, limité par une partie périphérique en transformation kératique (avec disparition de filaments) qui lui forme une membrane épaisse et colorée (fig. 1 pl. II). Ces cellules déformées et désorientées par compression inégale sont mélangées de cellules en dégénérescence kératique totale, plus ou moins aplaties, ou en transformation kérato-hydropique. Le spongoplasma s'épaissit et se colore fortement dans toute l'étendue, ou bien il forme des filaments épais, très colorés qui se laissent distendre, par du liquide, à la partie centrale de la cellule (dégénérescence kérato-hydropique). Ces lésions sont surtout marquées au niveau des cellules périphériques des globes épidermiques où la compression détermine des troubles de nutrition plus accentués. Les karyokinèses que l'on constate dans l'étendue de la prolifération ne sont pas seulement atypiques mais encore souvent dégénérées avec transformation granuleuse des chromosomes. Les cellules du centre c'est-à-dire les plus anciennement proliférées ont subi un processus de plasmolyse partiel, périnucléaire ou disséminé, qui aboutit à la formation de vacuoles, à la fonte totale du protoplasma (*cer* fig. 2 pl. II) et à la destruction de la cellule dont le noyau a subi une distension vésiculeuse, avec condensation de la chromatine et dissolution du nucléole (début du processus vésiculaire).

La prolifération conjonctive forme, par réunion des nodules disséminés, une nappe très étendue (*map*, fig. 1 et fig. 3) qui dissocie et remplace les faisceaux musculaires (*m*, *m* fig. 3); elle est parcourue de vaisseaux dont le processus d'endopérivasculaire est de plus en plus apparent (*r*, *v* fig. 1 et *ra*, *va* fig. 3) et de lymphatiques très dilatés (*ly*, *ly* fig. 1 et *ly* fig. 3). Elle englobe les glandes sudoripares dont la cavité dilatée est remplie par la prolifération et l'hypertrophie des cellules épithéliales. A un fort grossissement, les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins font une saillie perpendiculaire à la paroi et sont énormes avec des pointes irrégulières; le protoplasma des cellules périvasculaires devient moins coloré et les cellules anastomosées de la nappe, en hypertrophie maxima et baignées dans une lymphe abondante, ont perdu leurs prolongements sur une partie de leur étendue et sont devenues arrondies et globuleuses. Elles ressemblent ainsi aux grandes cellules conjonctives de la chavelée. Dans les espaces qui séparent ces grandes cellules vaccinales, il existe des plasmazellen et des grandes cellules éosinophiles. A la périphérie, on retrouve les nodules périvasculaires et des nodules développés autour de vaisseaux lymphatiques très dilatés et à grandes cellules endothéliales.

Certaines pustules du rebord labial peuvent présenter des proliférations épithéliales avec des globes épidermiques, des enkystements cellulaires, des dégénérescences kérato-colloïdes et une désorientation des cellules déformées, et cela avec une telle intensité que l'on peut les comparer aux néoformations cancéreuses typiques. La fig. 4 en donne une représentation fidèle et la légende qui l'accompagne nous évite d'insister. Nous noterons l'existence de grandes cellules épithéliales à noyau bourgeonnant (*m* fig. 4) ou à noyaux multiples.

Vésiculation et ombilication. La plasmolyse des grandes cellules claires aboutit à la formation de vacuoles puis à la transformation du protoplasma en un réticulum en toile d'araignée, enfin à la fonte totale. La cellule ainsi réduite à sa membrane cornée forme un utricule qui contient le noyau hypertrophié et parfois en dégénérescence colloïdale ou vésiculeuse, avec dissolution de la chromatine. Ces cellules utriculaires réunies ont l'apparence d'un tissu de cellules végétales. La membrane finit par se désagréger, les cavités s'ouvrent les unes dans les autres et donnent naissance à de petites vésicules séparées par des ponts (*pon*, *pon* fig. 1) plus ou moins épais de cellules utriculaires ou en dégénérescence cornée ou kérato-hydropique. Les cellules qui bordent la cavité se désagrègent progressivement dans celle-ci ou bien se détachent, deviennent globuleuses et nagent dans la lymphe (*ky* fig. 2, pl. II et *ky* fig. 1) où elles finissent par se dissoudre. La disparition de ces ponts cellulaires réunit les petites vésicules et constitue une grande vésicule anfractuense qui, en haut, atteint la couche cornée lamelleuse en bas pénètre dans l'axe des bourgeons épithéliaux profonds (*s*, *s* fig. 1) et jusqu'à la néoformation conjonctive et qui latéralement s'agrandit aux

dépens de la zone des grandes cellules claires situées dans la partie moyenne de la prolifération périphérique (*cf.* fig. 1). Lorsqu'au 6^e jour l'immunité se produit, la prolifération cesse et les cellules demi claires tendent à se kératiniser sur les bords de façon à constituer entre la prolifération papillomateuse sombre et la cavité vésiculaire un mur isolant de cellules résistantes; celles qui bordent la vésicule deviennent claires et colossales tandis que les autres se tassent de plus en plus.

La vésicule est donc formée par la fonte de la large nappe néoplasique centrale et elle se creuse, à la périphérie, dans la partie moyenne de la prolifération épithéliale. Aussi le toit de cette vésicule sera-t-il très mince au centre (*cf.* fig. 1) et ira-t-il en s'épaississant sur les bords pour se perdre dans la prolifération papillomateuse sombre (*cf.* fig. 1). Le toit forme donc un dôme dont la solidité est due à son épaisseur croissante vers la périphérie, mais aussi à la transformation kératique partielle des cellules qui le composent; il acquiert ainsi la résistance d'une lame élastique (*voir* fig. 1). A mesure que la vésicule s'agrandit, par désagrégation des cellules périphériques, le toit s'amincit de plus en plus et bientôt les lamelles cornées qui forment la partie centrale du toit se désagrègent; lorsque cette désagrégation s'est faite sur une certaine étendue, à partir du centre, toute la partie médiane s'affaisse et constitue une dépression cupuliforme connue sous le nom d'ombilication. Le reste du toit demeure arrondi à cause de la résistance élastique, mais, à mesure qu'il s'amincit, il s'affaisse, toujours du centre vers la périphérie à cause de l'épaisseur plus grande des bords. Ce processus est surtout bien net pour la pustule de la génisse ou du veau; le toit commence à s'affaisser au centre, mais, à cause de la grande étendue de la vésicule et de l'épaisseur de la couche cornée superficielle, lorsque l'amincissement du toit s'est fait sur un grand espace, le toit se gondole et prend un aspect ridé. La croûte centrale commence à apparaître au moment où la désagrégation des cellules du toit permet le suintement de la lymphe à l'extérieur. Les hypothèses émises sur le processus de l'ombilication ne résistent pas à l'examen des faits; celle, en particulier, d'après laquelle l'ombilication serait due à la traction de filaments qui, partis du centre, de raient s'insérer dans la profondeur, est contredite par l'absence fréquente de ces filaments et par ce fait qu'étant les résidus d'un processus de désagrégation, l'on ne comprend pas qu'ils puissent exercer une traction. En réalité ces filaments sont formés de fibrine et de débris de parois cellulaires et ne jouent aucun rôle dans la production de l'ombilication.

La vésicule n'est pas formée seulement par la fonte des cellules épithéliales mais aussi aux dépens des cellules de la prolifération conjonctive: les grandes cellules vaccinales qui sont au contact des bourgeonnements épithéliaux sont très volumineuses et claires; elles peuvent se tasser, perdre leurs prolongements et former de petits boyaux qu'il est difficile de distinguer, à cause de la disparition de la basale, des cellules épithéliales voisines irrégulières et claires. Dans la fig. 1 pl. II, les cellules conjonctives *b, b*, ont une grande ressemblance avec la cellule épithéliale *ep*; dans la fig. 5, les cellules conjonctives *a, b, c*, ne se distinguent que difficilement des cellules épithéliales *d, d*. Ces grandes cellules vaccinales arrivent à un maximum d'hypertrophie hydropique dans la lymphe qui les baigne; elles subissent une dégénérescence aqueuse totale et renferment, ou un gros noyau vésiculeux, ou bien des noyaux multiples au nombre de 2 à 5 de façon prendre l'aspect d'une cellule épithélioïde (*cf.* fig. 1 pl. II; *ep* fig. 5) et parfois d'une cellule géante. Ces cellules finissent par se détruire de sorte que le processus de vésiculation envahit la néoformation conjonctive de la même façon que la prolifération épithéliale.

Dès que le processus vésiculeux est nettement établi, et surtout à partir du 5^e jour, il se fait une diapédèse de polynucléaires hors des vaisseaux; ces polynucléaires infiltrent la prolifération conjonctive, pénétrant dans les interstices des cellules épithéliales et arrivent dans la vésicule. Ils augmentent rapidement de nombre surtout lorsque la vésiculation atteint la partie conjonctive de la pustule. Les plasmazellen qui existaient dans les intervalles des cellules conjonctives, augmentent de volume émettent des prolongements et prennent l'aspect de cellules fixes ramifiées. Des mastzellen et surtout des éosinophiles sont en nombre considérable. Le processus d'endopérivasculature forme autour des lumières vasculaires un manchon épais et fait apparaître les vaisseaux comme la véritable charpente de la néoformation.

Du 6^e au 7^e jour, la vésiculation a détruit la presque totalité de la prolifération épithéliale, respectant encore la partie bordante de certains bourgeonnements profonds et elle pénètre irrégulièrement dans la néoformation conjonctive. La partie médiane du toit dissociée laisse filtrer la lymphe qui forme une croûte composée de débris lamelleux de leucocytes, de microbes et de fibrine; cette fibrine se prolonge dans la vésicule sous forme d'un réseau à larges mailles enfermant des débris cellulaires et des granulations. Les cellules épithéliales, en plus de la dégénérescence aqueuse, subissent une dégénérescence kératocolloïde et se transforment en un bloc homogène qui se réduit

et présente des teintes métachromatiques. Sur les parties latérales, de grandes cellules lamelleuses claires encerclent encore la vésicule et constituent une sorte de barrière protectrice.

A partir de ce moment la néoformation épithélio-conjonctive achève de se désagréger et est envahie de plus en plus par les polynucléaires. La cavité vésiculaire dont le toit s'affaisse est comblée par le réseau fibrineux, les leucocytes et les débris de la désagrégation cellulaire.

Si l'on envisage l'ensemble du processus l'on voit qu'à une période de prolifération cellulaire pure, à la fois épithéliale et conjonctive-vasculaire, avec mononucléose légère (période d'induration), fait suite une période de dégénérescence cellulaire centrale, avec accroissement très actif de la prolifération périphérique (période de vésiculation); puis vient une période où la fonte cellulaire s'accroît rapidement, avec formation de lymphes abondante (période de ramollissement ou de sécrétion) et qui va jusqu'au moment où l'immunité apparaît et où le processus de prolifération s'arrête. Il vient en suite une période de désagrégation cellulaire rapide de toute la néoformation tant épithéliale que conjonctive, avec infiltration de polynucléaires (période de régression). La totalité de la pustule est ainsi éliminée et il se produit un processus de réparation qui aboutit à une cicatrice d'autant plus prononcée que la prolifération épithéliale et conjonctivo-vasculaire avait pénétré plus profondément.

B. Coupes de masses pulpaies de génisse.

M. le Docteur Chaumier (de Tours) a eu l'amabilité de nous adresser, immédiatement après l'opération, des masses pulpaies provenant du curettage de grosses pustules de génisse. Ces masses représentent, en somme, la totalité de la pustule sauf la peau normale voisine; nous les avons fixées ne les plongeant dans le Flemming et le sublimé. Les coupes bien orientées permettent d'obtenir la presque totalité de l'épaisseur d'une vésico-pustule, ainsi que le montrent les fig. 5 et 6. Ces coupes remplacent donc les coupes totales d'une pustule cutanée et on peut les avoir très fines ce qui est impossible avec ces dernières. Elle sont été colorées par les méthodes indiquées précédemment.

Sur les coupes qui comprennent la quasi totalité de la vésicopustule, l'on constate que la surface présente des lamelles cornées qui s'écaillent (*a, a* fig. 5 et 6) une couche de cellules lamelleuses ou assez volumineuses en dégénérescence cornée totale (*b, b, b* fig. 5 et 6) et des cellules plus ou moins aplaties ou déformées, à parois kératinisées très épaisses simulant un double contour, à protoplasma plus ou moins dégénéré et à noyau gonflé (*d, d* fig. 6) ou réduit à une petite masse hyperchromatique (*c, c, c* fig. 5 et 6). Leur protoplasma subit une dégénérescence aqueuse complète de sorte que ces cellules en transformation cavitaire et à parois épaisses présentent, l'aspect de cellules végétales (*x* fig. 5). Elles forment une nappe plus ou moins étendue et renferment des débris granuleux, noyau vésiculeux ou colloïde et parfois des noyaux multiples (*y* fig. 5). Elles peuvent s'ouvrir les unes dans les autres par destruction de leur paroi (*h, h, h* fig. 6) pour former de petites cavités vésiculaires.

De la surface partent des traînées de cellules volumineuses en dégénérescence colloïdo-cornée totale et parfois constitutives d'un globe épidermique (*m, m, m* fig. 5). A mesure que l'on va vers la profondeur les cellules subissent une dégénérescence aqueuse totale (*de* fig. 5) ou bien une dégénérescence aqueuse périphérique tandis que le reste du protoplasma forme un bloc colloïde (*o, o* fig. 5), la membrane cellulaire persistant à la périphérique. Le bloc colloïde se réduit, de sorte que l'ensemble de la formation est formé par des alvéoles irréguliers renfermant des masses colloïdes très colorée de volume variable, rondes ou ovalaires (*p, po* fig. 5). Certaines des grandes cellules épithéliales en dégénérescence colloïde augmentent de volume et s'étalent en un plasmode volumineux, homogène, très coloré, à gros noyau vésiculeux ou à noyaux multiples renfermant

des corps arrondis sombres et entourés d'une zone claire (*s, s, s* fig. 5; *r* fig. 6). Ces plasmodes peuvent présenter un protoplasma assez clair, vacuolaire et des noyaux multiples réunis en un groupe central (*r* fig. 6). Ils peuvent atteindre un volume colossal 200 et 300 μ , de sorte qu'ils ressemblent à d'énormes cellules géantes (*cel, cel* fig. 5 et 6) formées par un protoplasma homogène très coloré, en fonte colloïdale, avec un énorme noyau vésiculeux (*noy* fig. 5) et de nombreux corps arrondis (*cor* fig. 5). Parfois le protoplasma, à bords largement ondulés, d'aspect vitreux, renferme un noyau vésiculeux bourgeonnant, (*no* fig. 6) au voisinage duquel on constate une masse granuleuse d'aspect amiboïde (*ma* fig. 6) qui renferment de nombreux corps arrondis (*cor* fig. 6).

A mesure que l'on va vers la cavité vésiculaire, le réseau formé par les membranes cellulaires s'amincit, se désagrège et forme une tramule irrégulière (*tra* fig. 5) qui finit par se dissoudre. Il en résulte une cavité renfermant de la lymphe, des débris de membrane, des leucocytes polymucléés, des granulations et des cellules libres. Parmi celles-ci on trouve des cellules épithéliales en dégénérescence kératocolloïde: les unes ont conservé leur forme générale de cellule malpighienne (*t* fig. 5); les autres sont réduites à un bloc irrégulier (*t, t* fig. 5) ovale ou arrondi (*ar, ar* fig. 5), de volume variable, à noyau de moins en moins apparent et renferment souvent de nombreux corps arrondis, très colorés; quelques unes de ces cellules ont une partie périphérique claire simulant une paroi à double contour, de façon qu'elles ressemblent à une sorte de kyste (*ky, ky* fig. 5). Les grands plasmodes colloïdaux peuvent subir une transformation identique: ils s'arrondissent, leurs bords présentent une dégénérescence claire de façon à présenter l'apparence d'une paroi kystique (*do, do* fig. 5); mais cette apparence n'existe que sur une partie des bords qui sont constitués en d'autres points par un protoplasma étalé (*per* fig. 5). Si l'on examine successivement les cellules *s, so, sto, stx*, de la fig. 5 on se rendra compte de ces diverses étapes; on aboutit aux cellules *sto* et *stx* qui ressemblent assez à des kystes volumineux renfermant des corps sporiformes (formations pseudo-kystiques). Il existe encore, libres dans la vésicule, des éléments volumineux ronds ovales, parfois elliptiques entourés par une membrane épaisse, claire et plus réfringente en sa partie médiane, de sorte qu'il paraît exister un double contour, et qui renferment des grains assez volumineux, les unes clairs, les autres fortement colorés (*seb, seb* fig. 5). Il ne s'agit pas là de kystes véritables mais de cellules sébacées distendues, à paroi épaissies contenant des parasites fortement colorés. De loin en loin on rencontre de volumineux amas de microbes (*mic* fig. 5) et des touffes de mycélium.

Suivant les coupes examinées, la regression vésiculaire peut être plus ou, moins avancée; la vésicule peut être réduite à son toit corné et être remplie de leucocytes de fibrine et de débris cellulaires.

3. Pustules pulmonaires.

Nous avons fait des inoculations de vaccin bactériologiquement pur et de virulence éprouvée, dans la trachée et dans le parenchyme pulmonaire de 12 lapins. Nous avons obtenu chez trois d'entre eux des résultats positifs, c'est-à-dire la production de lésions spéciales sous forme de nodule isolés ou agminés, non phlegmasiques et virulents.

Exp. 1. Injection intratrachéale. Le 16 mars 1902 un demi centimètre cube de vaccin est dilué dans deux centimètres cubes de la solution salée physiologique. La seringue chargée, on pique la trachée mise à nu, on redresse le corps du lapin de façon que l'aiguille soit dirigée parallèlement à la trachée et on injecte brusquement, la totalité du vaccin en fixant la trachée, en haut, de façon à éviter les mouvements de déglutition.

Le 21, c'est-à-dire au 4^e jour, la respiration devient difficile; le 23 (6^e jour), elle est très pénible; l'animal, amaigri, est sacrifié, par saignée, à la fin du 6^e jour après l'inoculation. A l'autopsie, les poumons sont augmentés de volume. A droite, la moitié inférieure du lobe supérieur est d'un gris légèrement violacé et présente la consistance du foie; le reste du parenchyme, rose vif et emphysémateux, est parsemé de petits nodules arrondis ou allongés à bords un peu irréguliers, formés par un tissu dense, gris violacé, légèrement translucide. Le lobe moyen, présente une emphysème très marqué et une couleur rose jaunâtre sur laquelle tranchent des petits nodules qui s'agminent et forment un placard à bords irréguliers. Le lobe inférieur très augmenté de volume est lisse, de couleur gris rougeâtre et dense; à la palpation, on sent que la presque totalité du lobe est remplie de gros nodules compacts, de volume variable. A la coupe, les lésions des lobes supérieur et moyen se présentent sous forme de nodules qui s'enfoncent dans le tissu pulmonaire et s'anastomosent ou non avec d'autres nodules profonds; leur surface de section est brillante, de couleur gris violacé, et friable, sans aucune trace de suppuration ni de formation fibrineuse. La coupe du lobe inférieur présente des nodules isolés et surtout des nodules conglomérés le long des bronches et

qui arrivant à constituer de véritables formations pseudolobaires. Leur tissu est compact, brillant, d'un gris rose légèrement violacé, sans pus ni fibrine, de consistance ferme mais friable, et légèrement saillant sur la surface de coupe.

Exp. II. Inoculation intra-pulmonaire. Le 4 février 1902, une seringue stérilisée est chargée avec un centimètre cube de pulpe vaccinale bactériologiquement pure, et l'on introduit, à droite, entre deux espaces intercostaux d'un lapin, à travers la peau rasée et désinfectée, l'aiguille de la seringue, de façon qu'elle affleure la surface pulmonaire. A ce moment, on pousse lentement le piston de façon qu'il y ait un écoulement constant de lymphes et on enfonce la pointe de l'aiguille à plusieurs reprises, de façon à excorier la plèvre et les couches superficielles du parenchyme. Au 5^e jour, le lapin très bien portant est sacrifié par saignée.

Autopsie immédiate. La plèvre ne renferme pas de liquide; le poumon droit est légèrement hyperhémique; vis-à-vis des points de piqûre à la peau on constate l'existence de deux nodules sous pleuraux saillants, l'un du volume d'un grain de chènevis, l'autre d'un petit pois, durs gris violacé, entourés d'une zone congestive légère sans trace d'inflammation purulente ou fibrineuse de la plèvre. A la coupe, ces nodules s'enfoncent dans le tissu pulmonaire et sont formés par un tissu compact, brillant, friable, qui donne un peu de suc au raclage et ne présente aucune trace de pus.

Ces lésions par leur aspect général, leur disposition leur consistance, sont absolument identiques aux lésions pulmonaires de la clavelée (52); la même ressemblance existe au point de vue histologique.

Examen histologique. Comme nous l'avons indiqué déjà en 1902 (48), les caractères histologiques de la pustule vaccinale pulmonaire consistent en une prolifération cellulaire karyokinétique, à la fois épithéliale et conjonctivo-vasculaire, qui substitue à la structure normale de l'organe une néoformation de type néoplasique.

Dans les parties du poumon les moins atteintes, la coupe examinée à un faible grossissement est parsemée de petits nodules broncho-alvéolaires plus ou moins étendus. La lumière de la bronche est dilatée par une prolifération de cellules épithéliales atypiques qui dépriment irrégulièrement la paroi bronchique amincie. Sur les coupes longitudinales des bronches terminales on constate que la prolifération épithéliale remplit les ramifications intralobulaires et se continue directement jusqu'au niveau des alvéoles dont la cavité très augmentée de volume est tapissée de un ou plusieurs rangs de cellules volumineuses ou en est complètement remplie. Le tissu pérbronchique et interalvéolaire est formé de cellules conjonctives jeunes et de grandes cellules à noyau volumineux et à prolongements multiples; les capillaires dont les cellules endothéliales sont proliférées se fragmentent et s'oblitèrent sous l'influence d'un processus actif d'endopérivasculaire.

La prolifération épithéliale d'origine bronchique et alvéolaire qui se rapproche beaucoup de l'adénome marche donc parallèlement à une prolifération conjonctivo-vasculaire qui modifie profondément le tissu intermédiaire.

Les nodules plus volumineux s'étendent aux bronches et aux alvéoles d'un ou plusieurs lobules et la prolifération aboutit à la formation d'un adénome broncho-alvéolaire bien caractérisé (fig. 7). L'ensemble de la coupe permet de constater une disposition qui, à la périphérie, rappelle encore les alvéoles, mais sous forme de cavités très irrégulières, tapissées de cellules volumineuses disposées sur une ou deux couches (*a, a, a* fig. 7) et formant parfois de petits bourgeonnements (*b, b* fig. 7) dans la lumière. A mesure que l'on se rapproche des bronches, les cavités présentent trois et 4 couches des cellules épithéliales dont la prolifération de plus en plus intense dissocie la trame conjonctive, émet des bourgeonnements périphériques (*x, x* fig. 7) et donne naissance à des formations tubulées (*c* fig. 7), arrondies (*d* fig. 7) ou irrégulières (*g, g* fig. 7) et à des nappes épithéliales traversées par quelques petits tractus conjonctifs et qui se continuent avec les amas de la prolifération bronchique (*bro* fig. 7). La trame conjonctive est formée par de grandes cellules conjonctives aplaties et à prolongements volumineux qui, en de nombreux points, prolifèrent et forment des carrefours étoilés autour de vaisseaux dont le processus d'endopérivasculaire est très prononcé. A mesure que l'on va vers les nappes épithéliales, les cellules conjonctives s'aplatissent, s'allongent, pour constituer des filaments conjonctifs déliés. Il s'agit bien réellement d'un adénome alvéolaire du poumon, en prolifération très active et qui, en certains points, par son désordre et son action dissociante sur la trame conjonctive, présente les caractères d'une néoformation adéno-épithéliomateuse (*g, g* et *h* fig. 7).

Si l'on examine les nodules volumineux et surtout les formations pseudo-lobaires signalées dans l'expérience I, on constate, que la totalité de la

coupe est constituée par une prolifération cellulaire pure, désordonnée, formée surtout de cellules épithéliales, les unes claires, volumineuses ou colossales, les autres sombres, plus ou moins comprimées et désorientées (fig. 8). A la place des lumières bronchiques, il existe des amas étendus de cellules épithéliales atypiques (*a* fig. 8) qui ont distendu, puis aminci et enfin dissocié la basale et le tissu conjonctif pérbronchique (*br* fig. 8). La prolifération épithéliale bronchique vient ainsi se confondre (*x* fig. 8) avec la prolifération d'origine alvéolaire. Celle-ci forme de larges nappes de grandes cellules épithéliales en hypertrophie claire, le plus souvent colossales (*d, d, d* fig. 8); les nappes sont irrégulièrement traversées et tubulées par de fines travées conjonctives (*t, t, t* fig. 8) qui partent de carrefours conjonctifs étalés, de place en place, en forme de placards étoilés (*g, g* fig. 8). Ces lobulations ne rappellent, en aucune façon, les divisions alvéolaires du poumon normal; elles sont très irrégulières, les unes étendues et pleines (*m, m* fig. 8) ou avec une petite lumière centrale (*h, h* fig. 8), d'autres réduites à un groupement cellulaire plus petit ou à quelques cellules énormes et claires (*p, p* fig. 8) désorientées et parfois imbriquées en bulbe d'oignon (*r, r* fig. 8). La disposition normale des capillaires du poumon a complètement disparu; les travées conjonctives présentent, de loin en loin, des vaisseaux qui frappent par leur endopérivascularite (*va, va, va* fig. 8). Cette lésion est donc un type parfait de prolifération néoplasique, surtout épithéliale; elle réalise la structure d'un épithélioma du poumon d'origine à la fois bronchique et alvéolaire. Sur les bords du nodule, une structure adénomateuse d'aspect aciniforme, se dégage peu à peu et aboutit au retour progressif vers l'alvéole pulmonaire à cellules hypertrophiées.

L'étude de ces lésions à un fort grossissement, montre bien le caractère atypique et désordonné de la prolifération épithéliale; elle met en évidence la manière dont se fait la rupture de la basale, la dissociation du tissu conjonctif pérbronchique par l'épithélium bronchique proliféré, et la réunion de ce dernier avec le néoformation d'origine alvéolaire (fig. 9). L'épithélium bronchique est formé de grandes cellules claires, arrondies (*a, a* fig. 9) ou allongées avec une extrémité renflée (*b, b, b* fig. 9), mélangées de cellules sombres aplaties ou polygonales (*c, c, c* fig. 9), disposées en nombreuses rangées superposées ou en amas dépourvus de lumière. Ces cellules dépriment la basale (*g, g* fig. 9), la distendent pour former des culs de sac (*h, h* fig. 9) quis des bourgeonnements (*m, m* fig. 9) qui dissocient de plus en plus la basale et la prolifération conjonctive formée de grandes cellules anastomosées (*co, co, co* fig. 9). Les cellules de ces bourgeonnements bronchiques continuant à proliférer et subissant une énorme hypertrophie claire, rompent complètement la barrière conjonctive et entrent en contact avec la prolifération épithéliale alvéolaire. En *x* fig. 9, cette rupture de la trame conjonctive par l'épithélium bronchique en hypertrophie colossale est très apparente; on voit cette prolifération désordonnée faire irruption vers la prolifération d'origine alvéolaire de sorte qu'elles se pénètrent et se confondent (*t, t'* fig. 9). Les cellules alvéolaires ont subi, en effet, une prolifération karyokinétique très active, avec hypertrophie sombre, puis claire; elles deviennent énormes, arrondies ou piriformes, c'est-à-dire exactement semblables à celles de la prolifération bronchique; elles se tassent et forment des amas volumineux pleins (*pl* fig. 9) ou à lumière irrégulière (*ar* fig. 9). Ces amas prolifèrent activement à leur périphérie, forment des bourgeons pleins (*d, s* fig. 9) qui dissocient le tissu conjonctif, le réduisent à une trame très mince et constituent des néoformations lobulées, avec lumière (*alv* fig. 9) ou sans lumière (*am, am* fig. 9), formées de cellules de plus en plus atypiques. Ces formations nouvelles, en s'accroissant, se pénètrent par rupture des tractus conjonctifs intermédiaires qui, par endroits, s'élargissent en petits carrefours de division (*car, car* fig. 9) et aboutissent à des placards (*no, no* fig. 9) ou à des traînées (*tra* fig. 9) de cellules conjonctives. Ces placards sont formés de grandes cellules vaccinales irrégulières, à prolongements multiples, qui deviennent plus allongées et plus colorées le long des vaisseaux (*ce* fig. 9) (périvascularite). Ces vaisseaux ne sont plus nombreux et disposés en mailles comme dans le poumon normal; ils sont distribués çà et là dans les traînées conjonctives et présentent un endothélium proliféré et fortement hypertrophié (endovascularite) (*v, v, v* fig. 9).

Dans la fig. 10 est dessiné un des points assez étendus de néoformation conjonctive périvasculaire formée de grandes cellules claires difficiles à distinguer des cellules épithéliales. Les formations épithéliales (*ep, ep* fig. 10) dont on constate la reproduction mitotique (*k, k* fig. 10) sont lobulées par une fine trame conjonctive (*co, co* fig. 10) qu'ils peuvent rompre pour s'étendre dans des directions variées (*x, x, x* fig. 10); c'est en ces points où les cellules épithéliales entrent en contact direct avec les cellules conjonctives tassées que la distinction entre elles est difficile. Ces cellules conjonctives se reproduisent aussi par karyokinèse (*ky, ky* fig. 10); il se forme des cellules sombres qui se tassent autour des vaisseaux pour constituer une zone épaisse de périvascularite (*per, per* fig. 10) ou bien augmentent de volume, peuvent présenter plusieurs noyaux (*ab, ab* fig. 10) et devenir

colossales, claires et susceptibles de se reproduire encore par mitose (*km* fig. 10). Les cellules endothéliales très hypertrophiées font saillie dans la lumière du vaisseau, présentent des pointes multiples (*en* fig. 10), se divisent par karyokinèse (*d* fig. 10) et peuvent obstruer complètement le vaisseau (*end* fig. 10).

Au niveau des artères un peu volumineuses, il se fait un processus d'endopériartérite très intense: il se forme jusqu'à 5 et 6 couches de grandes cellules endothéliales claires et une prolifération très active des cellules périthéliales.

Les lésions provoquées dans le poumon, par le virus vaccinal, sont donc caractérisées par une néoformation purement cellulaire surtout épithéliale, mais aussi conjonctivo-vasculaires, sans polynucléaires qui va de l'adénome à l'adéno-épithéliome et à l'épithéliome broncho-alvéolaire.

4. Lésions de la mamelle.

Chaumier et Rehns (57), après inoculation de vaccin dans les trayons de la mamelle d'une vache en lactation, ont déterminé la production des pustules intramammaires comme le prouva l'élimination, après le 7^e jour, de fragments charnus, rosés, pulpeux et doués chez l'enfant de propriétés vaccinales.

L'étude histologique de ces pustules mammaires serait d'un grand intérêt; j'ai montré en effet que sous l'influence du virus claveloux il se développait des adénomes, des adéno-épithéliomes et de l'épithéliome atypique aux dépens de la glande mammaire. Le virus vaccinal doit donner naissance à des lésions même ordre.

5. Lésions du sang (formule hémoleucocytaire).

Nous n'avons pas pu étudier nous-mêmes les modifications produites sur le milieu sanguin par l'infection vaccinale. Cette étude a été faite par Roger et Weil, Enriquez et Sicard, Dominici.

D'après Roger et Weil (32) il se produirait chez l'adulte une polynucléose peu marquée avec persistance ou augmentation des éosinophiles. Enriquez et Sicard (30) ont constaté, au moment de la pustulation, une leucocytose exclusivement polynucléaire de 10 à 12 000 par millim. cube.

Chez l'enfant, non vacciné, il se produit, d'après Enriquez et Sicard, une réaction spéciale qui apparaît au 5^e jour, atteint son maximum avec la pustulation et fait retour à la normale au 5^e jour. Elle est caractérisée par une leucocytose de 12 à 18 000 par millim. cube, une augmentation de mononucléaires moyens et petits, qui s'élèvent de 32 et 50 % (normale) à 60 et 70 %, une diminution des polynucléaires et de très rares éosinophiles.

Chez le lapin, après une inoculation de vaccin dans la veine de l'oreille, Roger et Weil ont noté une leucocytose à mononucléaires non granuleux, vérifiée par Enriquez et Sicard. Pour Dominici (39) il se produirait une leucocytose proportionnelle à l'intensité de l'éruption avec une mononucléose faible (par augmentation des mono et diminution des polynucléaires) qui durerait 2 à 3 jours pour faire place à une polynucléose progressive. Cette polynucléose irait du 3^e au 7^e jour et serait remplacée par une mononucléose très accentuée persistant jusqu'au 12^e jour. Il faut y joindre une poussée d'hématies nucléées qui débute vers la fin du 4^e jour.

En somme, chez l'enfant, comme chez les animaux sensibles, la mononucléose demeure le fait essentiel de la réaction leucocytaire du sang, dans l'infection vaccinale.

Etude fine de la lésion cellulaire.

Les lésions des cellules atteintes par le virus vaccinal sont de même ordre qu'il s'agisse de cellules épithéliales ou de cellules conjonctives; en outre ces lésions sont identiques à celles que nous avons décrites pour la clavelée (52).

1) Cellules épithéliales: Au début de leur prolifération, les cellules cutanées ou glandulaires présentent un protoplasma foncé, prenant fortement la couleur, et un noyau dont le réseau de chromatine est plus dense et plus coloré. Elles subissent une hypertrophie progressive: le protoplasma se décolore à partir du noyau et présente ainsi une zone centrale incolore, comme gonflée par une substance réfringente; pour le noyau Clarke avait noté une hypertrophie, Salmon croit qu'il demeure au repos, Gorini décrit le noyau comme déformé de dimension énorme parfois bourgeonnant avec dans son intérieur 1 ou 2 amas de substance chromatique qui peuvent faire une saillie en bourgeon hors de la cellule; puis le noyau se détruit et il ne reste qu'un petit corps chromatique. En réalité, le noyau s'hypertrophie rapidement, le réseau de chromatine d'abord épais, devient moins serré et subit un étirement de ces filaments avec karyolyse partielle; ce noyau se gonfle, devient de plus en plus clair, prend une forme circulaire, et son réseau de chromatine distendu se rompt, en plusieurs endroits, puis se dissocie en fragments qui renferment plusieurs nucléoles flous et hypertrophiés. La membrane demeure intacte et on ne constate pas d'exsudation de chromatine hors du noyau. La cellule arrivée à son plus haut degré d'hypertrophie est claire dans toute son étendue, comme gonflée par une substance réfringente. A ce stade d'hypertrophie claire, la cellule a atteint 3 à 5 fois son volume normal. Bientôt un processus de plasmolyse débute, soit autour du noyau soit en un point quelconque du protoplasma; il se produit une tramule en toile d'araignée qui disparaît pour constituer des vacuoles. Ces vacuoles se réunissent; et cette fonte du protoplasma réduit la cellule à un utricule entouré par une membrane épaisse. Le noyau a augmenté de volume et a pris un aspect vésiculaire: les fragments dissociés du réseau de chromatine se dissolvent de plus en plus et les nucléoles qu'ils renferment apparaissent de moins en moins nets. Au moment où la plasmolyse s'accroît, le noyau qui a subi une véritable distension hydropique, est rond, clair, entouré par une membrane nette; la chromatine dissoute s'est condensée en 1 à 3 boules homogènes montrant encore quelques prolongements épineux, restes du réseau de chromatine; ces boules deviennent complètement rondes, opaques, libres dans la cavité nucléaires, ou étalées sur la membrane; le nucléole se confond avec la chromatine dans une masse qui prend de moins en moins la couleur. Nous avons désigné cette lésion (52) sous le nom de: „Distension vésiculeuse du noyau avec condensation en boules de la chromatine“.

L'utricule cellulaire se distend de plus en plus, la membrane nucléaire s'amincit, ne prend plus que difficilement la couleur de sorte qu'on est présence d'une dégénérescence aqueuse totale de la cellule avec hypoplasie kystiforme. La membrane cellulaire finit par désagréger; elle disparaît par places de même que celle du noyau; on aboutit à une disparition complète.

Il y a donc en réalité, pour le protoplasma, comme pour le noyau, un stade d'hypertrophie sombre, un stade d'hypertrophie claire colossale suivie de plasmolyse ou de karyolyse progressives (dégénérescence granuloaqueuse) aboutissant à la vésiculation totale et à la destruction de la cellule dans le liquide d'œdème.

Au niveau des cellules malpighiennes de la peau, au moment de l'hypertrophie claire, le spongioplasma périphérique et les filaments de passage se kératinisent: on a ainsi d'énormes cellules claires dont les contours épais, prennent souvent l'apparence de doubles contours très colorés qui peuvent laisser penser à une membrane kystique. D'autres, subissent un processus prononcé de kératinisation, avec adjonction parfois d'une dégénérescence aqueuse partielle: le spongioplasma forme des filaments épais, colorés disposés en fuseau, d'un pôle à l'autre de la cellule, et qui se laissent distendre au centre par le liquide d'œdème et finissent par s'y dissoudre (dégénérescence kératohydropique). Lorsque le protoplasma dégénère complètement ces cellules, avec leur membrane épaisse à double contour et déformée par compression, prennent un aspect de cellules végétales. Une dégénérescence kérocolloïde ou colloïde peut transformer la cellule en un bloc hyper-ou métachromatique, compact, vitreux, à bords arrondis (voir fig. 5 et 6) et cela surtout dans les régions voisines de la vésicule.

On peut trouver toutes ces lésions réunies au niveau et au voisinage des globes épidermiques (pl. I); la compression exercée par la cellule centrale, en énorme hypertrophie claire, déprime, déforme les cellules voisines, modifie leur nutrition, et détermine leur transformation kératique ou kérocolloïde rapides (cellules en croissance); le noyau peut subir une dégénérescence vésiculaire simple ou bien se transformer en une masse colloïde hyperchromatique qui se réduit de plus en plus; parfois sa chromatine se liquéfie et exsude à travers la membrane cellulaire. Dans les cellules en dégénérescence kérohydropique avancée, il peut exister des noyaux bourgeonnants ou multiples en distension vésiculeuse ou en dégénérescence kérocolloïde. Dans la pustule cutanée de la génisse, les cellules peuvent subir une dégénérescence

aqueuse périphérique avec transformation colloïde centrale; certaines cellules en dégénérescence colloïde forment d'énormes plasmodes identiques à de volumineuses cellules géantes opaques, très colorées dont le noyau a subi une distension hydropique colossale (fig. 5 et 6); elles se réduisent, s'arrondissent et peuvent présenter une forme pseudokystique (fig. 5 *sto*, *stx*).

Les karyokinèses déjà vues par Guarnieri sont très fréquentes; elles sont désorientées, parfois atypiques. Celles qui se font dans les parties centrales de la néoplasie, présentent souvent des phénomènes de dégénérescence granuleuse de la chromatine.

2) Cellule conjonctive: La néoplasie conjonctive se fait aux dépens des cellules fixes des espaces conjonctifs et des cellules vasculaires, par prolifération karyokinétique. La cellule conjonctive fixe formée d'un noyau aplati le long de la travée et d'une légère couche de protoplasma, s'hypertrophie: c'est d'abord le noyau qui augmente de volume, fait saillie, s'arrondit et est chargé de chromatine.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien¹⁾.

[Nachtrag zur ersten Mitteilung. Bd. XXXIII. No. 2. p. 150 ff.]

Von Drs. Adolf Lutz und Alfonso Splendore.

Mit 2 Tafeln und 1 Abbildung im Text.

Im folgenden geben wir eine Berichtigung der Irrtümer, die wir in der ersten Mitteilung zu korrigieren bitten. Dieselben sind die Folge der Unmöglichkeit, die Korrekturbogen selbst zu revidieren (siehe am Schluß).

Des ferneren geben wir Zeichnungen in natürlicher Größe von den verschiedenen Pebrinewirten mit Angabe der zu ergänzenden Farben.

Seit Absendung der ersten Mitteilung haben wir eine neue Pebrine: *Nosema helioidis* bei *Heliotis armigera* gefunden. Der Schmetterling gehört zu den Noctuiden und seine gefräßige Raupe ist polyphag; sie wird hierzulande hauptsächlich in den grünen Maiskolben gefunden, ist aber auch als Schädling der Baumwolle bekannt. Auch verschmäht sie nicht, gelegentlich andere Raupen zu verzehren. Die Pebrine zeigt eine mehr oder weniger gestreckte Eiform (s. Fig.). Länge der Spore 2,5—5,5, Breite 1,7—2 μ .

Bei *Dione Juno* sind zwei verschiedene *Nosema*-Arten zu unterscheiden:

1) *Nosema Junonis* α . Mehr oder weniger gestreckte Cylinder-eiform.

2) *Nosema Junonis* β . Ziemlich regelmäßige Eiform (Länge 3,5—4,5, Breite 1,7—2 μ).

α und β kommen getrennt oder auch zusammen beim selben Insekt vor, je nach dem Fundorte, von dem die Raupen stammen.

Die unbekannte Bombycide, deren Pebrine ähnlich *Nosema Lophocampae* ist, gehört zum Genus *Halesidotis*; die Art war nicht zu bestimmen.

Wir haben nun noch einige *Nosema*-Arten anzuführen, welche neuerdings in der Imagoform einiger kleiner Bombyciden aufgefunden wurden. Obgleich noch nicht eingehender studiert, erwähnen wir die-

1) Leider wurde durch ein unliebsames Versehen die Publikation sehr verzögert. Red.

selben doch, weil es sich um nach Form und Größe gut charakterisierte Species handelt:

13) (19) *Nosema Caeculiae*. Anscheinend identische Formen, welche in zwei verschiedenen *Caeculia*-Arten gefunden wurden. Spore: Regelmäßig gestreckte Eiform, öfters mit Vakuole, Länge 5—6, Breite 2—2,5 μ .

14) (20) *Nosema Hydriae*. Diese Pebrine wurde von Herrn Foetterle in Petropolis in einer Art von *Hydria* entdeckt. Die Sporen zeigen eine an Bacillen erinnernde gestreckte Cylindereiform, sind aber von *N. Vanillae* deutlich verschieden. Die Spore scheint öfters der Länge nach etwas abgeplattet, so daß der Aequatorialschnitt statt rund elliptisch ist. Länge 4—5,5, Breite 1—1,5 μ .

15) (21) *Nosema Micrattaci*, aus *Micrattacus nana*, *Bombycidae*. Spore: Regelmäßige Ei- und Cylindereiform. Länge 3,5—4, Breite 1,5—2 μ .

Damit steigt die Zahl der von uns beobachteten *Nosema*-Arten auf wenigstens 21. Davon kommen 17 bei Lepidopteren vor, der Rest verteilt sich auf Orthopteren, Arachniden und Fische.

Ueberdies haben wir noch zu erwähnen, daß es uns gelang, die Raupe von *Papilio pompejus* Fbr. mit Material von *Dione Juno* zu infizieren, während die Kontrolltiere frei blieben. Die auf *Citrus*-Arten häufige soziale Raupe wurde öfters von uns untersucht und immer pebrinefrei gefunden. Damit steigen die durch Fütterung infizierten Raupenarten auf vier (unter Einschluß der Seidenraupe).

Neuerdings hatten wir auch Gelegenheit, einige Formen zu beobachten, welche nach der gewöhnlichen Nomenklatur in die Genera *Pleistophora* und *Thélohania* gestellt werden müßten. Sie haben mit den beschriebenen *Nosema*-Arten viele Analogieen, zeigen aber andererseits auch Unterschiede, so daß sie denselben nicht ohne weiteres zugerechnet werden dürfen.

Es handelt sich um Parasiten, welche von dem einen von uns (Lutz) beim Studium der blutsaugenden Zweiflügler in *Simulium*-Larven aufgefunden wurden. Letztere stammten aus zwei verschiedenen, weit voneinander entfernten Lokalitäten, von denen eine nur *Simulium venustum* Say, die andere neben diesem in weit größerer Zahl *Simulium ochraceum* Walker enthielt. Obgleich nur ein kleiner Prozentsatz der Larven befallen ist, läßt sich das Material doch leicht gewinnen, weil die Parasitencysten als auffallend weiße Tumoren im Hinterleibe der Larven leicht sichtbar sind. Sie liegen anscheinend frei neben dem Fettkörper zwischen Darm und Leibeswand des Wirtes als einzeln oder mehrfach vorkommende rundliche Cysten mit feiner Membran, in welcher zahlreiche, ebenfalls dünnwandige Sekundärcysten eingeschlossen sind. Diese befinden sich in verschiedenen Entwicklungsstadien; die am meisten differenzierten enthalten blasse oder glänzende Sporen. Ihre Zahl ist entweder bestimmt (8) oder unbestimmt, jedoch enthält eine Primärcyste (Pansporoblast) jeweils nur eine Art von Sekundärcysten resp. Sporoblasten. Sind mehrere Pansporoblasten vorhanden, so können beide Kategorien vertreten sein, im ganzen sind aber die Oktosporen viel seltener.

Wir glaubten zuerst, eine ganz neue Beobachtung gemacht zu haben, ersehen aber bald darauf aus Labbé: „Sporozoa“ (p. 107), daß Léger einen ähnlichen Parasiten aus der Larve von *Simulium ornatum* unter dem Namen *Glugea* (*Nosema*) *varians* beschrieben hat.

Leider konnten wir uns den Artikel selbst vom Autor nicht verschaffen; doch geht aus der Notiz hervor, daß Léger ebenfalls vielsporige und achtsporige Sporoblasten in gesonderten Primärceysten fand und dieselben als zusammengehörig und nicht als besondere Arten auffaßte. Wir sind geneigt, uns dieser Ansicht des verdienten Sporozoenforschers anzuschließen; jedoch lassen sich zu Gunsten derselben verschiedene ähnliche Vorkommnisse bei anderen Sporozoen anführen, die wir teils früher, teils neuerdings beobachtet haben.

Wenn wir aber auch mit Léger annehmen, daß dieselbe Art viel- und achtsporige Sporoblasten bilden kann, so müssen wir bei unseren *Simulium*-Arten doch wenigstens zwei Species annehmen, welche sich in der *Pleistophora*-Form deutlich unterscheiden. Ob eine derselben mit der Légerschen Form identisch ist, muß dahingestellt bleiben. Am meisten gleicht sie der Form α , mit welcher zusammen die Oktosporen gefunden wurden, wenn sie nicht allein vorkamen.

Ohne in alle Einzelheiten eingehen zu wollen, geben wir doch im folgenden eine kurze Beschreibung und einige erläuternde Figuren, indem wir von den später zu erörternden Entwicklungszuständen absehen.

Form α . Die glänzenden Sporen sind in Form und Größe ziemlich wechselnd. Sie variieren von einer kurzen, fast runden Eiform zu einer mehr gestreckten, resp. zu einer kurzen Cylindereiform, wobei der vordere Pol spitzer, der hintere mehr abgerundet ist. Sie enthalten meist eine Vakuole von wechselnder Größe, in der sich nicht selten ein eingeschlossenes rundes Körperchen entdecken läßt. Daneben kommen andere vorgerücktere Formen vor, deren ganzer Inhalt hell ist und deren Schale am spitzen Pole eine deutliche Mikropyle zeigt. Aus derselben kann bei genügend fortgeschrittener Entwicklung ein sehr langer und ziemlich dicker, vorn zugespitzter Polfaden ausgestoßen werden. (Ein spezifisches Reagens für die Austreibung der Polfäden ließ sich trotz vieler Versuche nicht auffinden.) Die äußere Schale kann in zwei Hälften aufklappen.

Häufig finden sich monströse Formen, deren Volumen demjenigen von zwei oder mehr normalen Sporen entspricht. Solche Formen können Vakuolen enthalten oder ganz hell sein, doch wurden weder Polfäden noch Mikropyle beobachtet.

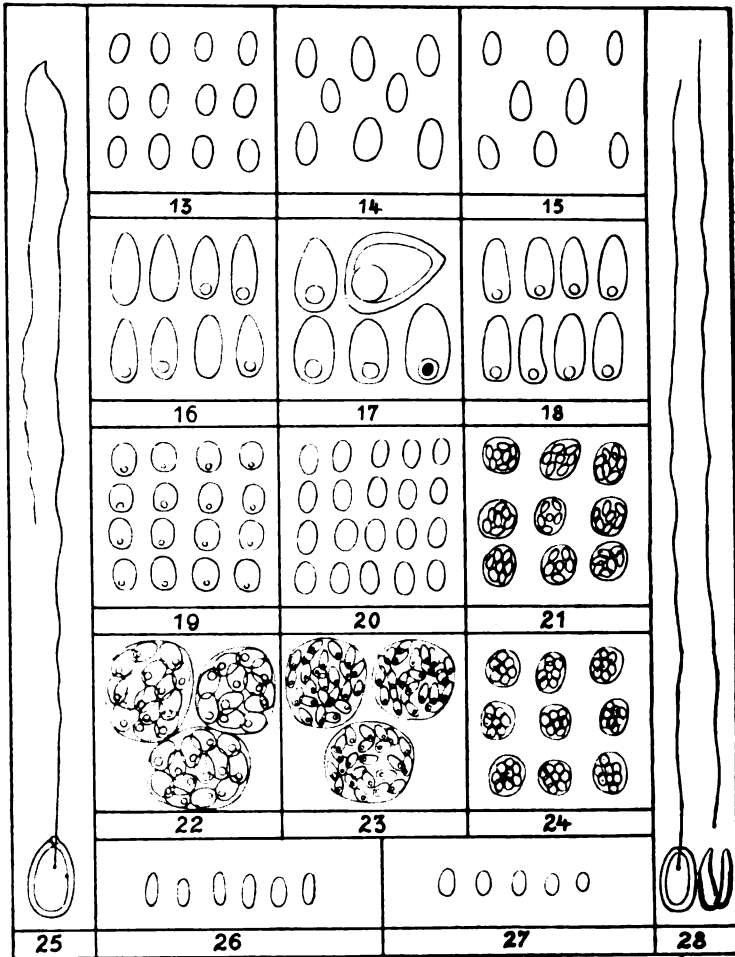
Manche Pansporoblasten lassen keine Sporoblasten mehr erkennen, sondern nur eine Anhäufung von glänzenden Sporen, welche in der Form den beschriebenen gleichen, in der Größe aber außerordentlich wechseln. Die Dimensionen der Sporen sind folgende: Länge 5,5–8,5, Breite 4,5–5,5 μ ; Länge des Polfadens bis zu 120 μ .

Form β . Diese ist weit schmaler, aber nahezu von derselben Länge. Ihre Form ist regelmäßiger eiförmig oder cylindrooivid. Das Vorkommen einer Vakuole wird ebenfalls beobachtet. Auch hier findet sich ein deutlicher Polfaden, der aber kürzer und feiner ist. Nach der Ausstoßung klappt die Schale in zwei Hälften auf. Länge der Sporen: 4,5–5,5, Breite 2,5–3,5 μ ; Länge des Polfadens 50 μ .

Die Oktosporen wurden entweder isoliert oder mit der Form α zusammen gefunden; ihre morphologischen Charaktere waren stets dieselben, so daß eine Unterscheidung einer zweiten Art nicht möglich war. Es handelt sich um eine regelmäßige Eiform, bei welcher aber die Polarkalotten auffallend flach und wenig gewölbt sind. Länge der Sporen: 3,5, Breite 2,5 μ ; Länge des Polfadens 35 μ .

Die Größe der Pansporoblasten beider Arten ist nicht konstant. Die einzelnen Sporoblasten und Sporen liegen immer sehr dicht bei-

sammen und die Zwischenräume sind von einem durchsichtigen strukturlosen Medium ausgefüllt.



- Fig. 13. *Nosema Junonis*. Sporen.
 Fig. 14. *Nosema Armigeræ*. Sporen.
 Fig. 15. *Nosema Halesidotidis*. Sporen.
 Fig. 16. *Nosema Caeculiae*. Sporen.
 Fig. 17—19. Parasiten von *Simulium*larven. 17 Sporen der Form α ; 18 der Form β (Pleistophoraformen); 19 Oktosporen.
 Fig. 20. Oktosporen. — Fig. 21. Oktosporencyste aus Raupen und Puppen von *Sericaris mori*.
 Fig. 22. Pleistophoracyste von *Simulium*larve, Form α .
 Fig. 23. Ditto, Form β .
 Fig. 24. Oktosporencysten aus *Simulium*larven.
 Fig. 25. Pleistophorasporer der Form α mit ausgestoßenem Polfaden.
 Fig. 26. *Nosema Hydriæ*. Sporen.
 Fig. 27. *Nosema Micrattaci*. Sporen.
 Fig. 28. Ditto, Form β mit ausgestoßenem Polfaden und Dehiszenz der Schalen.

Die Vergrößerung beträgt für die Figuren der Sporen 1250, wie bei der früheren Abbildung, für die Figuren der Cysten 500 Durchmesser.

Die Cysten sind bisher nur in der Larve, niemals in Imago oder Puppe aufgefunden worden.

Im Anschluß an diese Beobachtungen konstatierten wir ein wichtiges Faktum; dasselbe besteht in der Existenz einer *Thélohania*-Form, resp. achtsporiger Cysten oder Sporoblasten bei Raupen und Puppen von *Sericaria mori*, welche mit verschiedenen *Nosema*-Arten infiziert worden waren. Die erste Beobachtung machte Dr. Splendore bei der Untersuchung von Seidenraupen, welche *Nosema Lophocamocae* enthielten. Von diesen gingen viele eine pathologische Metamorphose ein, indem sie entweder gar keine oder nur unvollständige Gespinste machten. (Daneben wurden aber auch normale Cocons beobachtet.) Später wurden sie auch bei Seidenraupen und -puppen gefunden, welche mit *Nosema Junonis* und *Bombycis* infiziert waren, nicht jedoch in uninfizierten Kontrolltieren. Die infizierten Raupen und Puppen enthielten die gewöhnliche, vielsporige, Form in der normalen Verteilung und mit den respektiven Charakteren, während die Oktosporen eine besondere Lokalisation zeigten. Diese fanden sich in erster Linie in der Haut, erst in zweiter Linie in den subkutanen Muskelfasern und im Fettkörper, unter Ausschluß der Muskelfasern und Epithelien des Darmkanales und der Malpighischen Gefäße, sowie der Spinn- und Geschlechtsorgane. (Dies erklärt wohl, warum sie bis dahin übersehen wurden.) Auch haben wir sie bisher niemals in jungen Raupen gefunden.

Bei allen diesen zu acht gruppierten Sporen war die Form mehr regelmäßig, so daß sie sich wohl von der begleitenden Pebrine, nicht aber unter sich unterschieden. Es sind nahezu regelmäßige Eiformen mit folgenden Durchmessern: Länge 3,5, Breite 2 μ . Die achtsporigen Sporoblasten bilden Gruppen, ohne daß man deutlich cystische Pansporoblasten nachweisen könnte, wie dies bei *Simulium*-Larven der Fall ist. Doch beobachtet man auch hier die Existenz von monströsen Formen, welche einer geringeren Zahl von Sporen entsprechen.

Eine erneute Untersuchung des Materiales von *Periplaneta americana* zeigte, daß zwischen den vielsporigen Cysten einige achtsporige existieren; doch ist in denselben die Sporenform nicht von derjenigen der vielsporigen Cysten unterschieden.

Als allgemeine Regel kann man sagen, daß, wo vielsporige Cysten mit achtsporigen zusammen vorkommen, die letzteren immer weniger häufig sind. Auch haben wir bisher keine Tierart beobachtet, bei welcher unter Ausschluß aller vielsporigen Formen nur Oktosporencysten gefunden wurden.

In unserer ersten Mitteilung Bd. XXXIII. p. 150 ff. sind folgende Druckfehler und Irrtümer zu berichtigen:

- p. 150 Z. 2 v. o. lies: Sporozoen; Z. 4. v. o. lies: Drs.
- p. 151 Z. 3 v. o. lies: monuste; Z. 12 v. o. lies: Anstellung; Z. 26 v. o. lies: Form, Größe; Z. 17. v. u. lies: Cornalia; Z. 5 v. u. lies: Cnidosporeidien; Z. 3 v. u. lies: Fäden, wären.
- p. 152 Z. 5 v. o. lies: Myxosporidien; Z. 18 v. o. lies: neustria.
- p. 153 v. o. lies: zusammenfallende; Z. 20 v. o. lies: würde; Z. 22 v. o. lies: gebogen; Z. 28 v. o. lies: cylindro-ovoide; Z. 1 v. u. lies: Godt.
- p. 154 Z. 12 v. o. lies: Erippi; Z. 23 v. o. lies: Senecio; Z. 3 v. u. lies: reichlich.
- p. 155 Z. 7 v. o. lies: Länge 2,5—2,75 μ , Breite 0,85—1,30 μ ; Z. 21 v. o. lies: Cylindereiform; Z. 11 v. u. lies: Cylindereiformen; Z. 9 v. u. lies: Länge 2—5 μ , Breite 1—2,5 μ ; Z. 6. v. u. lies: 1250-facher Vergrößerung (statt 2000-facher, da die Zeichnung beim Druck reduziert wurde).
- p. 157 Z. 3 v. o. lies: Epithelschicht befallen.

Erklärung der Tafeln.

(Die Figuren sind in natürlicher Größe ausgeführt, mit Ausnahme von Fig. 20.)

I. Natürliche Wirte.

Fig. 1. *Dione vanillae*, Nymphalidae. Gelblichrot mit schwarzen Zeichnungen und einer etwas heller gefärbten Stelle an den Vorderflügeln.

Fig. 2. *Dione Juno* Cram. a) Raupe, hellchokoladebraun, mit dunkleren Punkten und schwarzen Dornen; b) Puppe, hellchokoladebraun, c) Imago, orangerot, mit schwärzlicher Zeichnung. Auf der Unterseite perlmutterglänzende Flecke, ebenso bei *D. vanillae*.

Fig. 3. *Brassolis Astyra* Godt., Brassolidae. a) Raupe, dunkelfarbig, mit hellen Längsstreifen, Kopf und Füße dunkelrot; b) Puppe, citronen- oder rötlichgelb, mit dunkelbraunen Flecken; c) Imago, sehr großes Exemplar, sammetschwarz, mit dunkelrötlichem Schimmer und schwarz-orangeflecken.

Fig. 4. *Danais Erippus* Cram., Danaidae. a) Raupe, hellgelb, mit schwärzlichen Querstreifen; b) Puppe, meergrün, mit goldglänzenden Punkten; c) Imago ♂, bräunlich-orange, mit weißen und schwarzen Flecken.

Fig. 5. *Danais Gilippus* Cram. Imago ♂, Farben wie bei 4c.

Fig. 6. *Eueis Isabella*. Imago: Grund sammetschwarz, Zeichnung citronengelb und orange. (Der Schmetterling, welcher als *Mechanites Lysimnia* angeführt ist, wurde seitdem von einer Autorität als obige, in Farbe und Zeichnung sehr ähnliche, Art bestimmt. Es ist daher statt *Nosema Lysimniae* *Nosema Isabellae* zu setzen.) a) Raupe, b) Puppe, c) Imago.

Fig. 7. *Catopsilia Eubule* Cram. Pieridae. Schwefelgelb, mit braunen und rötlichen Flecken.

Fig. 8. *Lophocampa flavosticta*, Bombycidae. a) Raupe, grünlichbraun, mit heller Unterseite und schwarzen Haaren; b) Puppe, dunkelbraun; c) Imago, hell, milchkaeffeifarben, mit dunklerer Zeichnung und einigen hochgelben Punkten.

Fig. 9. *Bombyx* (*Sericaria* E. Blanch.) *mori* L. Bekannt.

Fig. 10. *Periplaneta americana*, Blattidae. Gelbbraun bis schokoladebraun.

Fig. 11. *Girardinus caudimaculatus* Hens., Cyprinodontidae. Silberfarben, nahe dem Hinterende ein schwarzes Querstreifen auf der Seitenlinie. Oft vorhandene schwarze Punkte sind pathologische Pigmentablagerungen um Pebrine- oder Trematodencysten.

II. Versuchstiere.

Fig. 12. *Pieris monuste* L. a) Raupe, lilafarben, mit gelben Längsstreifen, schwarzen Punkten und weißen Härchen; b) Puppe, elfenbeinfarben, mit dunkler Zeichnung, c) Imago ♂, schwarze Zeichnung auf rein weißem Grunde; d) ♀ der Grund ist gelbweiß.

Fig. 13. *Attacus aurota* Cram. ♂. Mittelfeld der Flügel gelbbraun, mit 4 durchsichtigen Flecken. Die übrigen Zeichnungen zeigen verschiedene Nuancen von dunkelbraun, grau fleischfarben und weiß.

III. Natürliche Wirte.

Fig. 14. *Heliotis armigera*, Noctuidae. a) Raupe, heller und dunkler olivenfarben; b) Imago, graugelb, mit dunkleren Zeichnungen.

Fig. 15. *Halesidota* spec.

Fig. 16. *Caeculia* spec. I. Imago bräunlich-gelb, mit dunkleren Zeichnungen.

Fig. 17. *Caeculia* spec. II. Imago gelbbraunlich, mit helleren Zeichnungen.

Fig. 18. *Hydria* spec. Imago aschgrau, mit dunkelbraunen Zeichnungen.

Fig. 19. *Micrattacus nanus*. Imago schwärzlichgrau, mit schwarzer Zeichnung.

Fig. 20. Larve von *Simulium* spec. mit Cysten im Hinterleib. Gesamtfärbung olivenfarben; Farbe der Cysten elfenbeinfarben. Vergrößerung 5fach.

IV. Versuchstiere.

Fig. 21. *Papilio Pompejus* Fabr. Imago sammetschwarz mit durchscheinenden Partien und roten schillernden Flecken der Hinterflügel.

12c



3b



12d



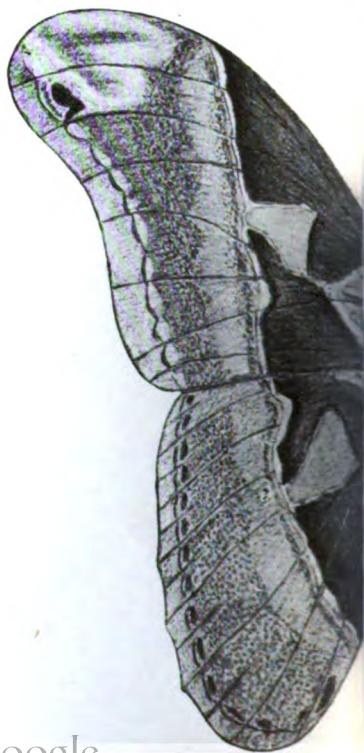
12b



6c



6b



2c



2b



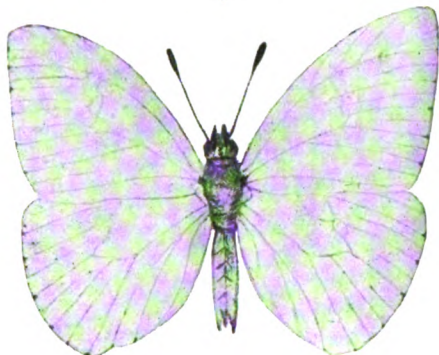
3c



3a



7



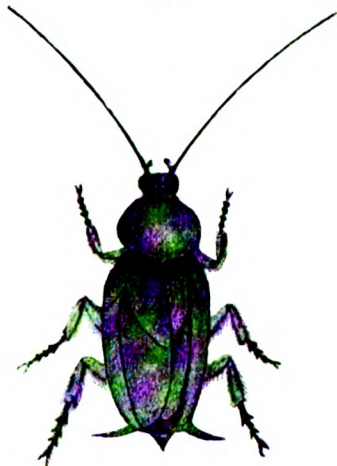
9



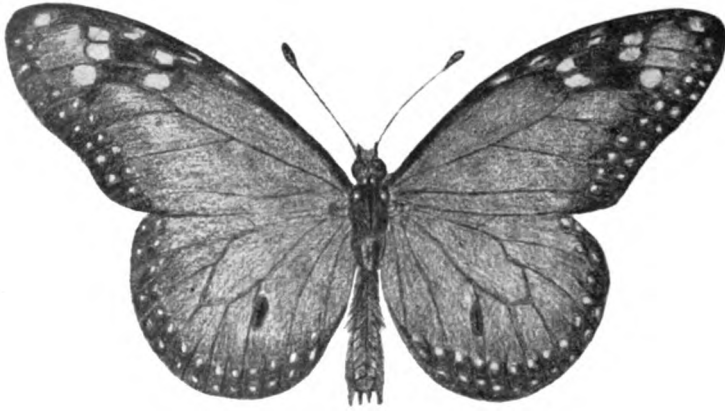
13



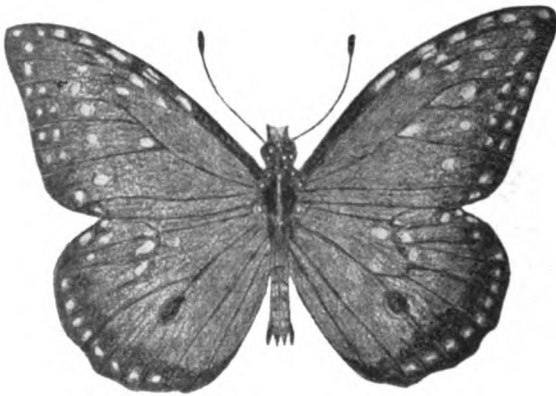
10



4c



5



1



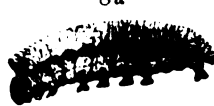
8c



8b



8a



4b



1



4a



6



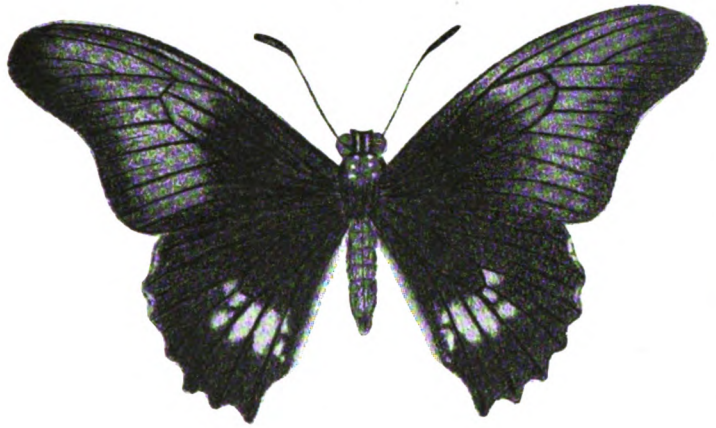
17



18



21



9



5



11



14 a



4b



20



Nachdruck verboten.

Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd.

Von Georg Lichtenheld, Tierarzt in Leipzig.

Mit 2 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Betrachten wir nur die mit Echinokokken behafteten Lungen und Lebern, so sehen wir, daß bei älteren Tieren beide fast gleich oft (39,2 Proz. Lungen und 46,4 Proz. Lebern) befallen, bei jungen hingegen sehr selten die Lungen und bei weitem am häufigsten die Lebern ergriffen sind.

Diese Befunde erhalten in den Beobachtungen von Mejer ihre Bestätigung insofern, als dieser am hiesigen Schlachthofe bei den eingeführten ungarischen Schweinen (die nach meiner Beobachtung im Durchschnitt ein Alter von ca. 2 Jahren haben) das Verhältnis der befallenen Lungen zu den Lebern wie 14,79:12,03, bei Landschweinen (die ein Alter von ca. $\frac{3}{4}$ Jahren haben) wie 0,26:3,81 fand. Mejer gibt jedoch nicht an, daß die verschiedene Lokalisation auf dem Altersunterschied der Tiere beruht.

(Ich halte es für sehr wahrscheinlich, daß die Unterschiede in der Lokalisation bei jungen und alten Schweinen auf der Weite der Leberkapillaren beruhen. Während diese bei jungen Tieren so eng sind, daß die Embryonen in ihnen stecken bleiben, besitzen sie bei älteren Tieren eine Ausdehnung, die einem Teile der Embryonen das Passieren gestattet. Ob diese Ansicht auch auf die Lokalisation der Echinokokken bei den verschiedenen Tierarten Anwendung finden kann, muß ich dahingestellt bleiben lassen.)

Ueber die Lokalisation bei Schafen fand ich außer den oben angeführten Beobachtungen von Ostertag, Schneidemühl und Längrich keine Angaben in der Literatur vor. Ich muß hier vorausschicken, daß ich bei der Besprechung der Schafechinokokken die auf Alter und Geschlecht bezüglichen Gesichtspunkte habe fallen lassen müssen, da ich die Zugehörigkeit der Organe zu einem Tiere oft nicht mit voller Sicherheit feststellen konnte. Ich fand 40 Schafe mit Echinokokken behaftet. Von diesen waren folgende Organe befallen:

8mal die Lunge	
3 " "	Leber
27 " "	Lunge und Leber
1 " "	Lunge, Leber und Milz
1 " "	Milz.

Es waren demnach mit Echinokokken behaftet:

36 Lungen	=	52,2 Proz.
31 Lebern	=	44,9 "
2 Milzen	=	2,9 "

Bei den Schafen sind die Lungen etwas häufiger als die Lebern von Echinokokken befallen; beide meist zusammen.

Meine Beobachtungen stimmen also mit den Angaben von Ostertag, Schneidemühl und Längrich im wesentlichen überein.

Noch spärlicher sind die Mitteilungen über die Lokalisation der Echinokokken bei Pferden. Es dürfte deshalb nicht unangebracht sein, die wenigen Befunde über Echinokokken der Pferde hier aufzuführen.

Veröffentlicht sind diese von Raimond (12), Railliet (13), Morot (14), Easse (15), Pauli (16), Hengst (17), Gutzlaff (18), Morot (19), Mettam (20).

Meine eigenen Untersuchungen beschränken sich auf 18 mit Echinokokken behaftete Tiere; bei 17 war die Leber, bei einem die Lunge und Leber ergriffen.

Es ergeben sich also als befallene Organe:

18 Lebern = 94,5 Proz.

1 Lunge = 5,5 „

Während ich bei Rind, Schaf und Schwein nur Echinokokken von über Walnußgröße zu der Statistik verwendet habe, schließen die Echinokokken bei Pferden dieselben jeder Größe in sich ein. Unter den 18 Echinokokkenfällen war bei einem Tiere je ein hühnereigroßer in Lunge und Leber vorhanden; bei einem anderen befanden sich 3 walnußgröße in der Leber. Die übrigen Echinokokken waren nur ungefähr erbsengroß.

Fasse ich meine Beobachtungen über die Lokalisation der Echinokokken bei den Tieren zusammen, so ergibt sich, daß das Verhältnis der befallenen Lungen und Lebern bei Rindern wie 69,3:27,0, bei Schweinen: a) männlich wie 74,2:16,2, b) weiblich wie 72,0:21,4, bei Schafen wie 52,2:44,9 und bei Pferden wie 5,5:94,5 ist.

Außerdem habe ich festgestellt, daß bei älteren Schweinen die Lunge bedeutend häufiger befallen war (39,3 Proz. der Organe) als bei jungen Tieren (nur 12,8 Proz. der Organe).

Ueber Befunde von Echinokokken in anderen als von mir schon angegebenen Organen liegen in der Litteratur noch Mitteilungen vor von Pauli (16), Wulf (21), Benedictis (22), Rehnet (23), Knoll (24), De Angelis (25) und Benedictis (26).

Der *Echinococcus cysticus* ist demnach gefunden worden:

Bei Rindern in Lunge, Leber, Niere, Herz, Milz, Euter, Knochen, Gehirn, Peritoneum und Pleura;

bei Schweinen in Lunge, Leber, Herz, Milz, Niere und Muskeln;

bei Schafen in Lunge, Leber, Milz, Herz (in diesem wurde von mir ein verkalkter *Echinococcus* gefunden);

bei Pferden in Lunge, Leber, Muskeln und Gehirn.

Ueber das Vorkommen der Echinokokken mit anderen Parasiten zusammen habe ich die Beobachtung gemacht, daß Echinokokken und *Cysticercus tenuicollis* bei Schwein und Schaf sehr oft zusammen vorkamen. Dies ist sehr erklärlich. Beide Bandwürmer bewohnen den Darm des Hundes, wo die *Taenia echinococcus* häufig auch vergesellschaftet mit der *Taenia marginata* vorkommt. Tiere, die sich mit Echinokokken infizieren, werden sehr oft zugleich die Brut der *Taenia marginata* aufnehmen. Andere Beziehungen zwischen Echinokokken und Parasiten oder Krankheiten konnte ich nicht finden.

Unter den hier besprochenen Echinokokken sind solche mit Tochterblasenbildung (Hydatidenbildung) einbegriffen. Ich fand diese nur bei Rind und Schwein. Bei Schaf und Pferd habe ich sie nicht beobachtet.

Ich konnte bei Rindern dreimal Echinokokken mit Hydatiden konstatieren, zweimal in der Lunge und einmal in der Leber. Von den beiden ersten besaß nur der eine Echinococcus endogene, d. h. innerhalb der Echinokokkenmembran liegende, der andere exogene, d. h. zwischen der Echinococcus-Membran und der Bindegewebshülle des Organes liegende Tochterblasen, der dritte besaß beide Formen.

Wesentlich öfter als bei Rindern, nämlich 7mal, konnte ich bei Schweinen Tochterblasenbildung beobachten. Die Hydatiden befanden sich 5mal in der Leber und 2mal in der Lunge und Leber. Sie besaßen die Größe von einer kleinen Erbse bis zu einer Walnuß. Einmal fand ich nur eine Hydatide, in den anderen 6 Fällen mehrere zusammen in einem Echinococcus. Die Tochterblasen lagen in 4 Fällen innerhalb, in 3 Fällen außerhalb der Echinococcus-Membran. Drei Tiere, bei denen sich die endogenen Tochterblasen befanden, hatten ein Alter von ca. 4 Jahren, eins war 3 Jahre alt. Die 3 Echinokokken mit exogenen Tochterblasen besaßen zwei Schweine von $\frac{3}{4}$ Jahren und ein Schwein von ca. 2 Jahren.

Beschreibung der fertilen und sterilen Echinokokken.

Die fertilen (mit Brutkapseln behafteten) und sterilen (ohne Brutkapseln) Echinokokken lassen bedeutende makroskopische Verschiedenheiten erkennen, so daß eine Besprechung in dieser Trennung notwendig ist. Eine getrennte Beschreibung der Echinokokken der Bullen, Ochsen und Kühe ist überflüssig, da sowohl die fertilen als auch die sterilen Echinokokken derselben sich vollständig gleich sind.

Die fertilen Echinokokken der Rinder (siehe Fig. 1).

Die Größe der fertilen Echinokokken der Rinder schwankt zwischen der einer Walnuß und eines Kindskopfes. Ihre Form ist fast ausschließlich kugelig. Ausbuchtungen fehlen oder sind nur sehr gering entwickelt.

Die Bindegewebscyste des fertilen Echinococcus ist je nach dessen Alter sehr verschieden. Ihre Stärke beträgt bei jungen Tieren ca. 0,5 mm, bei alten bis zu 6 mm. Bei jenen ist sie vollständig gleich stark an allen ihren Teilen entwickelt, bei diesen treten manchmal geringe Unterschiede in der Stärke auf. Diese habe ich oft an Echinokokken beobachten können, welche teils subserös, teils intraparenchymatös lagen. Der subseröse Teil der Cyste ist dann weniger stark als der intraparenchymatöse.

Jedoch kann auch an anderen Stellen die Dicke der Bindegewebscyste Schwankungen, allerdings stets nur unbedeutenderen Grades, unterliegen, ohne daß man oft eine Erklärung für dieses Verhalten finden kann. Außerdem konnte ich nicht selten wulstartige Verdickungen da finden, wo stärkere Stränge in das interstitielle Gewebe des Organs von der Cyste ausgingen.

Der Zusammenhang zwischen Cyste und dem interstitiellen Bindegewebe ist im allgemeinen kein bedeutender, da die verbindenden Stränge meist nur von geringer Stärke, und nur manchmal in unmittelbarer Nähe der Cyste dicker sind. Infolge der starken Wandung fühlen sich die fertilen Echinokokken hart an; dieselbe ist auch bei den kleinsten subserösen vollständig undurchsichtig und von weißer Farbe. Nach dem Aufschneiden wird das Volumen nur um ein Geringes vermindert, da die elastischen Elemente den Widerstand der starken Cysten-

wand nicht überwinden können. Das eben Gesagte gilt besonders von den Lungenechinokokken.

Die Membran des fertilen Echinococcus ist bei jungen Tieren von bläulich-weißer, bei älteren von weißer und bei sehr alten manchmal von grauweißer Farbe. Ihre Stärke ist bei jüngeren Individuen etwa 0,25 mm, bei alten habe ich sie bis zu $1\frac{1}{2}$ mm Stärke gefunden. Die Membran haftet bei jungen Echinokokken nach dem Durchschneiden noch an der Cyste und rollt sich an ihrem Schnittrande nur wenig ein; bei älteren hingegen löst sie sich sehr leicht los, ihre Schnittränder rollen sich stark ein. Sie ist stets glatt, besitzt nie Falten oder Erhabenheiten. Die Brutkapseln sind in verschiedener Anzahl und Anordnung vorhanden. Zumeist sind sie nur spärlich und in Abständen gleichmäßig über die Membran verteilt. Selten konnte ich eine ungleichmäßige Verteilung beobachten, mit welcher dann ein besonders geringer Grad von Produktivität verbunden war. Die Membran dieser Echinokokken ist verhältnismäßig schwach und stellenweise von gelblich-weißer Farbe.

Ich habe bei Rindern nur wenige Echinokokken gefunden, die sich durch großen Reichtum an Brutkapseln auszeichneten. In diesen Fällen bildeten sie einen gelblichen Belag auf der weißen Membran und verdeckten diese fast vollständig. Die Brutkapseln sind meist von geringer Größe. Die Flüssigkeit ist klar ohne Beimengungen. Die Brutkapseln haften ziemlich fest an der Membran und sind selten in der Flüssigkeit zu finden.

Die sterilen Echinokokken der Rinder (siehe Fig. 2).

Die sterilen Echinokokken verhalten sich in vielen Beziehungen vollständig anders als die oben beschriebenen fertilen. Ihre Größe ist je nach dem Alter ebenfalls sehr verschieden. Ich fand sterile Echinokokken bis zur Größe eines Kindskopfes. Waren sie kleiner als eine Walnuß, so konnte ich sie oft makroskopisch nicht sicher als steril bzw. fertil ansehen, weshalb ich diese auch nicht in meine Betrachtungen eingeschlossen habe.

Alle sterilen Echinokokken der Rinder zeichnen sich durch eine sehr schwache Bindegewebscyste aus. Ihre Stärke ist bei den Echinokokken verschiedener Größe nicht sehr verschieden. Die älteren Blasen besitzen nur eine unbedeutend stärkere Cyste als die jüngeren. Diese ist bei subserös gelegenen Echinokokken meist so dünn, daß man die Membran durchscheinen sehen kann.

Die Dicke der Bindegewebshülle weist bei jüngeren Echinokokken keine großen Verschiedenheiten auf, bei älteren ist sie zumeist sehr ungleichmäßig. Am schwächsten sind die ausgebuchteten Teile, am stärksten die zwischen jenen in das Innere ragenden Stränge. Diese sind oft sehr zahlreich vorhanden und teilweise sehr stark entwickelt. Ihre Richtung und Länge ist sehr mannigfaltig. Am stärksten ausgeprägt sind die Stränge in den Lungen; in den übrigen Organen habe ich sie stets von nur geringer Größe gefunden.

Die Wandung der sterilen Echinokokken zeigt sich gegen Druck sehr nachgiebig. Schneidet man dieselben an, so schrumpfen sie, je nach dem Organ, in dem sie sich befinden, mehr oder weniger zusammen. Bei den Lungenechinokokken ist diese Schrumpfung so stark, daß die Cystenwand sich sehr runzelt. Bei den Echinokokken der Milz konnte ich ein ähnliches, wenn auch nicht so stark hervortretendes Schrumpfen

beobachten. Die sterilen Echinokokken der Leber, Nieren und des Herzens verkleinerten sich nach Entfernung des flüssigen Inhalts nur in geringem Grade.

Die Membranen der jüngeren sterilen Echinokokken besitzen eine schmutzig-weiße, der älteren eine gelbe und der sehr alten eine gelbbraune Farbe. Viele Membranen besitzen ein gesprenkeltes Aussehen, indem zwischen den gelben Stellen hellere hervortreten.

Die übrige Beschaffenheit der Echinokokkenmembran ist ebenfalls je nach dem Alter der Blase sehr mannigfaltig. Junge Echinokokken besitzen eine fast vollständig glatte Membran, alte haben solche mit verschiedenartigen Fältchen. Diese kommen mehr oder weniger regellos vor oder parallel oder, was sehr oft der Fall ist, radiär angeordnet. Bei letzterem Verlaufe findet man in der Mitte einen rosettenartigen Vorsprung der Membran, von dem die Fältchen ausgehen. Die Vorsprünge und die Höhe der Falten zeigen meist einen etwas dunkleren Farbenton als die übrigen Teile der Membran.

Diese eben beschriebenen Eigentümlichkeiten besitzen in hervorragendem Grade diese sterilen Echinokokken der Lungen, die der anderen Organe zeigen sie zwar auch, aber in nicht so hohem Maße. Ich bemerke ausdrücklich, daß die infolge Schrumpfung bei den sterilen Echinokokken entstehenden Runzeln in der Bindegewebscyste und der Echinococcus-Membran hier vollständig außer acht gelassen sind.

Die Stärke der Membran ist sehr gering und beträgt meist weniger als 0,5 mm; sie steht auch nicht im proportionalen Verhältnisse zur Größe der Echinokokken, sondern verhält sich bei großen wie bei kleinen ziemlich gleich. Die Echinokokkenflüssigkeit hat eine wasserklare Beschaffenheit; nur bei den sterilen Leberechinokokken konnte ich nicht selten eine gelbliche Färbung finden.

Die mit Tochterblasen ausgestatteten Echinokokken zeigten keine Sonderheiten. Waren sie steril, so glichen sie den einfachen sterilen Echinokokken; im anderen Falle den fertilen. Die Hydatiden des Echinococcus exogenus liegen zur Hälfte in Ausbuchtungen der Bindegewebscyste, mit der anderen Hälfte reichen sie, die Echinokokkenmembran vor sich herstülpend, in das Echinokokkeninnere hinein. Die Membran der Hydatiden ist bei den fertilen Echinokokken weiß, nur in geringem Grade durchscheinend und von ziemlicher Dicke, die der sterilen durchsichtig und sehr zart, so daß sie sehr leicht platzen.

Unterschiedlich von den fertilen Echinokokken, wie ich sie beschrieben habe, erwies sich ein mit Brutkapseln besetzter Echinococcus im Herzen. Dieser war gestielt, von bohnenförmiger Gestalt und etwa Walnußgröße. Die Bindegewebshülle war sehr schwach und betrug weniger als 1 mm. Die Farbe der Membran war gelblich; Falten und Vorsprünge waren nicht vorhanden. Die Anzahl der Brutkapseln war sehr gering.

Die fertilen Echinokokken des Schweines.

Die fertilen Echinokokken des Schweines haben fast ausnahmslos eine kugelige Gestalt. Sie sind nicht kleiner als eine Wallnuß und erreichen die Größe einer Apfelsine. Es ist hierzu zu bemerken, daß die Brutkapseln meist nur bei Echinokokken von über Walnußgröße auftreten.

Die Bindegewebscyste ist mäßig entwickelt, ihre Dicke schwankt je nach der Größe und dem Alter des Echinococcus zwischen $\frac{3}{4}$ und 3 mm; sie ist an allen ihren Teilen gleich stark. Die Verbindungen mit dem interstitiellen Bindegewebe des Organes sind sehr schwach. Die Innenfläche ist vollständig glatt.

Sehr selten konnte ich fertile Echinokokken beobachten, deren Bindegewebskapsel mit Ausbuchtungen versehen war; letztere waren dann ziemlich flach. Der Bindegewebshülle liegt die Echinococcus-Membran vollständig glatt an. Die Farbe und Dicke derselben ist bei Echinokokken verschiedenen Alters verschieden. Junge fertile Echinokokken besitzen eine bläulich-weiße, ca. $\frac{1}{2}$ mm starke, alte eine weiße, bis zu $1\frac{1}{2}$ mm dicke Membran. Die Echinococcus-Membran ist vollständig gleich stark entwickelt, stets vollkommen glatt, ohne Falten und Erhabenheiten.

Die Brutkapseln liegen bei den jüngsten fertilen Echinokokken meist nur auf einer Hälfte der Membran oder sind auch nesterartig ausgebreitet; bei älteren finden sie sich gleichmäßig über die ganze Membran verteilt. Die Membran der fertilen, ausgebuchteten Echinokokken weicht im allgemeinen nicht von der eben beschriebenen ab. Sie besitzt nie eine bedeutende Stärke und meist keine weiße, sondern eine mehr grauweiße Farbe. Die Brutkapseln sind meist nur in geringer Anzahl vorhanden und ungleichmäßig verteilt.

Die sterilen Echinokokken der Schweine.

Die sterilen Echinokokken der Schweine sind den zuletzt beschriebenen fertilen in vielen Beziehungen ähnlich. Ich habe sie auch mit diesen oft vergesellschaftet gefunden. Der sterile Echinococcus erreicht jedoch nie die Größe, einer Apfelsine. Die Gestalt desselben ist mehr oder weniger unregelmäßig. Sie kann fast kugelig sein und nur wenige flache Ausbuchtungen besitzen, oder diese sind derartig zahlreich und stark ausgebildet, daß das Innere des Echinococcus dem Abguß einer Brombeere nicht unähnlich ist.

Die Bindegewebscyste ist meist von nur geringer Dicke und ungleichmäßig stark ausgebildet. Sie besitzt viele strangartige Verdickungen, zwischen denen sich schwach entwickelte Stellen finden. Einige sterile Echinokokken besaßen jedoch auch eine besonders starke Bindegewebshülle, deren Stärke die eines fertilen von derselben Größe bedeutend übertraf.

Die Membran ist nie weiß, sondern grauweiß und durchscheinend und stets nur von sehr geringer Stärke. Ihre Schnittenden rollen sich nicht auf. Die Membran zeigt keine Falten oder Vorsprünge, sondern ist vollständig glatt und löst sich nicht von selbst von der Cystenwand ab.

Der fertile Echinococcus endogenus weicht von dem beschriebenen fertilen Echinococcus in keiner Weise ab. Der Echinococcus exogenus zeigt im allgemeinen auch die Eigentümlichkeiten des fertilen bzw. des sterilen Echinococcus. Es bleibt auch hier nur zu erwähnen, daß die exogene Hydatide zur einen Hälfte in den Ausbuchtungen der Bindegewebscyste sich befindet, während die andere Hälfte von der Echinokokkenmembran bedeckt in das Innere ragt.

Außerdem möchte ich hier auf eine Eigentümlichkeit der Schweinechinokokken hinweisen. Ich fand bei 3 ca. 4—5 Jahre alten Schweinen

2mal je einen faustgroßen Echinococcus und 1mal zwei ebensolche, die bezüglich ihrer Form denen der fertilen Echinokokken glichen. Die Flüssigkeit war nicht wie bei allen anderen klar, sondern besaß ein milchiges Aussehen. Anstatt der Echinococcus-Membran fand ich dünne Kalkschüppchen, die der Bindegewebshülle direkt anlagen. Nur an wenigen Stellen konnte ich noch Spuren der vorhanden gewesenen Membran auffinden. Da mir bei allen übrigen Tieren solche Echinokokken nicht vorgekommen sind, obwohl viele, besonders bei den Rindern, ein höheres Alter gehabt haben, so glaube ich, daß die fertilen Echinokokken des Schweines eine geringere Lebensdauer besitzen als die der übrigen Tiere.

Die fertilen Echinokokken der Schafe.

Die fertilen Echinokokken der Schafe habe ich nie größer als einen kleinen Apfel gefunden. Sie unterscheiden sich von denen der anderen Tiere wesentlich in ihrer äußeren Gestalt; nur der fertile Echinococcus in der Milz ist letzteren ähnlich. Er ist von runder Gestalt mit gleichmäßig starker, weißer Membran. Die fertilen Echinokokken der Leber sind meist von walzenförmiger, seltener von kugeligem Gestalt. Sie besitzen viele, zum Teil sehr starke Ausbuchtungen, die durch größere oder geringere Septen von einander abgegrenzt sind. Bei den walzenförmigen Echinokokken verlaufen die Septen meist zirkulär.

Eine weitere Eigentümlichkeit der fertilen Leberechinokokken besteht darin, daß sie, die Serosa vor sich herstülpend, über die Oberfläche des Organes herauswachsen. Diese Eigentümlichkeit besitzen in noch höherem Grade die fertilen Lungenechinokokken. Ich habe einige gefunden, von denen nur ein etwa erbsengroßer Teil in dem Parenchym sich befand, von dem aus sich eine Ausstülpung ca. 10 mm weit über die Oberfläche des Organes erhob. Im übrigen besitzen die fertilen Lungenechinokokken eine mehr oder weniger kugelige Gestalt mit meist größeren Ausbuchtungen als die Leberechinokokken.

Die Bindegewebscyste der fertilen Echinokokken ist von gleichmäßiger und ziemlich großer Dicke. Nur der subserös gelegene Teil ist stets schwächer entwickelt als der intraparenchymatöse. An der Stelle des Ueberganges des einen Teils zum anderen findet man nicht selten eine geringe Einschnürung. Die Bindegewebscyste ist bei jungen Echinokokken noch sehr nachgiebig und retraktionsfähig, bei alten hingegen hart und steif.

Die Membran des fertilen Echinococcus ist von weißer Farbe, vollständig glatt und gleichmäßig entwickelt. Die Schnittenden rollen sich ebenfalls, aber nur in geringem Grade ein. Die Brutkapseln sind fast stets sehr reichlich vorhanden und bedecken die Membran fast vollständig. Sie sind meist ganz gleichmäßig verteilt; zahlreiche schwimmen in der Echinococcus-Flüssigkeit. Diese ist stets klar und ohne andere Beimengungen.

Die sterilen Echinokokken der Schafe.

Der sterile Echinococcus unterscheidet sich in seiner äußeren Gestalt nicht wesentlich von dem fertilen. Die Bindegewebshülle ist fast ebenso stark; einmal konnte ich beobachten, daß ein Teil derselben eine dem Echinococcus multilocularis nicht unähnliche, bienen-

wabenförmig gefächerte Ausbildung besaß. Ich habe den sterilen *Echinococcus* nicht über die Oberfläche proliferieren sehen. Die Dicke der Membran ist sehr gering. Die Schnittenden rollen sich nicht ein.

Bei der Besprechung der Echinokokken der vorangehenden Tierarten habe ich nur Echinokokken von der Mindestgröße einer Walnuß berücksichtigt, da nur an solchen ihre Fertilität und Sterilität mit absoluter Sicherheit zu erkennen war. Leuckart hatte gefunden, daß bei den Schweinen die Proliferation der Brutkapseln in Echinokokken von ungefähr Walnußgröße erfolgte. Dies konnte ich auch feststellen. Bei Rindern und Schafen tritt die Proliferation meist früher ein. Ein haselnußgroßer *Echinococcus* von einem Bullen zeigte eine große Anzahl Brutkapseln.

Außerdem ist, wie durch die vorangehenden Beschreibungen der Echinokokken zur Genüge bewiesen, das Vorhandensein der Brutkapseln nicht das einzig unterscheidende des fertilen vom sterilen *Echinococcus*, sondern der ganze Habitus desselben. Da dieser auch schon bei Echinokokken unter Walnußgröße ausgeprägt ist, so sind bei letzteren mit ziemlicher Sicherheit solche, die fertil werden, von solchen, die steril bleiben, zu unterscheiden.

Da ich diese Tatsache aber erst nach umfangreichen Untersuchungen kennen lernte, und ich auch bei kleineren Echinokokken die unterscheidenden Merkmale des fertilen vom sterilen manchmal nicht typisch entwickelt fand, so fuhr ich fort, nur die mindestens walnußgroßen Echinokokken bei meinen Untersuchungen in Betracht zu ziehen.

Die Echinokokken der Pferde.

Die Echinokokken des Pferdes gedachte ich von denselben Gesichtspunkten aus zu betrachten. Nachdem es aber bei der Untersuchung von ca. 600 Tieren noch nicht gelungen war, einen *Echinococcus* von Walnußgröße zu finden, hingegen nicht selten solche von Erbsengröße, glaubte ich annehmen zu müssen, daß die meisten Echinokokken bei Pferden überhaupt nicht oder doch nur sehr langsam zu einer bedeutenderen Größe gelangen, was durch meine weiteren Untersuchungen bestätigt wurde. Aus diesen Gründen hielt ich es für angebracht, auch die kleinsten Echinokokken hier mit anzuführen.

Ich habe im ganzen nur bei 2 Tieren Echinokokken von Walnußgröße und darüber gefunden.

I. Stute, ca. 14 Jahre alt.

In der linken Lunge, nahe dem kaudalen Rande, befindet sich ein faustgroßer, kugelig *Echinococcus*, der sowohl auf der dorsalen wie ventralen Seite die an diesen Stellen verdickte und etwas vorgewölbte Serosa erreicht. Die Blase fühlt sich sehr hart an und zeigt sich gegen Druck wenig nachgiebig. Die Bindegewebscyste ist ca. 3 mm dick und von vollständig gleichmäßiger Stärke. Die *Echinococcus*-Membran löst sich sehr leicht ab und rollt sich an ihren Schnittenden ein. Ihre Farbe ist weiß; sie ist $1\frac{1}{2}$ mm dick.

Die Leber besitzt einen nahezu kindskopfgroßen *Echinococcus*, der fast ausschließlich in dem Parenchym des Organes liegt; nur eine ca. markstückgroße Stelle liegt unter der hier ebenfalls wieder verdickten Serosa. Die Dicke der Bindegewebscyste und der Membran ist um ein geringes bedeutender als bei dem Lungen-*Echinococcus*, sonst ist sie von gleicher Beschaffenheit. Brutkapseln sind in beiden

Echinokokken sehr zahlreich vorhanden; der größte Teil hat sich bei Eröffnung der Blase schon losgelöst und schwimmt in der Flüssigkeit.

II. Stute, ca. 8 Jahre alt.

Die Leber besitzt 3 Echinokokken von Walnußgröße, 2 liegen teils subserös, einer nur intraparenchymatös. Alle 3 sind von kugeliger Gestalt. Die Bindegewebshülle ist innen glatt, ca. 1½ mm dick und von vollständig gleichmäßiger Stärke. Die Membran ist weiß und liegt der Cystenwand glatt an; ihre Schnittenden rollen sich nur gering ein. Die Membran ist ca. 1/3 mm stark, vollständig glatt und gleichmäßig entwickelt. Es sind sehr zahlreiche Brutkapseln vorhanden; viele schwimmen frei in der Flüssigkeit.

Die übrigen Echinokokken waren ungefähr erbsengroß. Da ich unter diesen keine makroskopisch wahrnehmbaren Unterschiede finden konnte, so kann ich hier nur eine allgemeine Beschreibung derselben geben; die Unterschiede bezüglich ihrer Fertilität und Sterilität werde ich bei der Histologie der Echinokokken anführen.

Sie erscheinen als vollständig kugelige Cysten. Die Bindegewebshülle ist ca. 1 mm stark; von ihr verlaufen meist zahlreiche Stränge nach dem interstitiellen Bindegewebe. Dieses ist in der Umgebung der Echinokokken meist verdickt. Bei zahlreicher Anwesenheit der Parasiten war besonders an dem Leberrande die Wucherung des interstitiellen Bindegewebes soweit vorgeschritten, daß es das Parenchym vollständig verdrängt hatte und man nur die kleinen Echinokokken und Bindegewebe vorfand. Liegen die Echinokokken unter Serosa, so wölben sie dieselbe flach hervor. Die Serosa ist an dieser Stelle verdickt und weiß.

Wie ist das Verhältnis der fertilen und sterilen Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd und von welchen Umständen sind Verschiedenheiten in demselben abhängig?

Ueber die Häufigkeit der fertilen und sterilen Echinokokken bei den Schlachttieren liegen keine genaueren Untersuchungen vor. Ostag (10) und Schneidemühl (11) geben an, daß die Echinokokken der Schafe verhältnismäßig häufig fertil, die der Rinder und Schweine meist steril seien. Es scheint mir, daß hier unter sterilen Echinokokken alle sowohl entwickelte als auch nicht entwickelte gemeint sind. Es sind also auch alle noch keine Brutkapseln zeigenden Echinokokken, die aber bei weiterem Wachstum solche produziert hätten, als steril aufgeführt.

Ich bezeichne als fertil solche Echinokokken, welche Brutkapseln, als steril solche, die keine Brutkapseln besitzen und auch nicht im stande sind, solche zu produzieren. Natürlich werden nach diesen Gesichtspunkten auch die Ergebnisse sich anders gestalten. Zugleich will ich in diesem Kapitel den eventuellen Einfluß von Geschlecht, Alter, Nährzustand und Krankheiten des Trägers auf die Fertilität der Echinokokken besprechen. Ebenso soll die eventuelle Beziehung der intraparenchymatösen und der subserösen Lage der Echinokokken zu ihrer Fertilität Berücksichtigung finden.

Ueber die Produktivität der Echinokokken des Menschen konnte ich in der Literatur nachfolgende Ansichten finden:

Helms (1) glaubt, daß die Sterilität durch pathologische Einflüsse während ihres Wachstums hervorgerufen würden. Zu letzteren rechnet

er chronische Entzündungszustände des befallenen Organes. Einen spezifischen Einfluß der Organe auf die Produktivität lehnt er ab, entgegen der Ansicht Leuckarts, der dies vom Gehirn insofern behauptet, als dort nur sterile Echinokokken hervorgehen sollen.

Leuckart (27) schreibt: „Wodurch diese Unterschiede (frühere oder spätere Köpfchenbildung) bedingt sind, wissen wir nicht. Ebenso wenig, wie es kommt, daß gewisse Echinokokken, sogenannte Acephalocysten, überhaupt nicht zur Produktion gelangen. Ein Gleiches gilt in betreff der Ursachen, welche die Sterilität herbeiführen, obwohl anzunehmen ist, daß Ernährungsstörungen dieser oder jener Art dabei eine hervorragende Rolle spielen“.

Küchenmeister (28) erwähnt mit folgenden Worten die Acephalocysten: „Das einzige Auffallende ist vielleicht der Umstand, daß die Umhüllungsysten von Acephalocysten bei klarem, wässrigem Inhalte und geringem Umfange oftmals schwartiger, dicker und cartilaginöser sind als die echten Echinokokken, bei denen ein ähnlicher Bau der Cysten gewöhnlich nur bei größeren Kolonien oder bei solchen vorzukommen pflegt, welche deutliche Reste abgestorbener Scolices und eiterigkrumige Masse enthalten“.

Ueber die Fertilität der multikulären Echinokokken äußert sich Posselt (29) dahin, daß keinerlei Relation zwischen Wucherung und Größe der Parasiten und Fehlen oder Vorhandensein von Köpfchen existiert.

Aus Vorhergehendem ergibt sich, daß man einerseits die Ursachen der Fertilität oder Sterilität der Echinokokken nicht kennt, andererseits auch überhaupt noch nicht weiß, wieviel der ausgewachsenen Echinokokken bei unseren Schlachttieren fertil oder steril sind. Da eine genaue diesbezügliche Statistik für die Beurteilung der Sterilität von großem Wert ist, erlaube ich mir nachstehend eine solche auszuführen.

Von 9 mit Echinokokken behafteten Bullen besaßen 3 fertile Echinokokken = $33\frac{1}{3}$ Proz., von 17 Ochsen 3 = 17,6 Proz., von 74 Kühen 18 = 24,3 Proz. Von 100 Rindern waren es also 24 Stück, die fertile Echinokokken aufweisen konnten, das sind 24 Proz.

Bei Schweinen gestaltet sich das Verhältnis der fertilen zu den sterilen wie folgt: von 27 männlichen Tieren besaßen fertile Echinokokken 23 = 85,2 Proz., von 58 weiblichen 45 = 77,6 Proz. Die Zahl der Schweine mit fertilen Echinokokken betrug also 68 von 85 mit Echinokokken befundenen Tieren = 80 Proz.

Bei 40 mit Echinokokken behafteten Schafen fand ich dieselben 37mal fertil = 92,5 Proz.

Bei Pferden fand ich unter 18 Echinococcus-Fällen 7mal fertile Echinokokken = 38,9 Proz.

Hieraus geht hervor, daß die Tierart einen ganz bedeutenden Einfluß auf die Fertilität der Echinokokken ausübt. Ob man bez. des Geschlechtes, wie es anscheinend aus der verschiedenen hohen Prozentzahl hervorgeht, auch einen solchen annehmen darf, halte ich für sehr fraglich. Wie ich schon früher hervorgehoben habe, kommt bei den Bullen und männlichen Schweinen gegenüber den Kühen und Ochsen, bez. den weiblichen Schweinen das geringere Alter in Betracht, dem ich, worauf ich unten noch zurückkommen werde, den Einfluß zuschreibe.

Ich konnte also keinen offenbaren Einfluß des Geschlechtes auf die Fertilität konstatieren. Um den Einfluß des Alters auf den Echino-

coccus festzustellen, brauchte ich bloß die prozentuale Häufigkeit von fertilen Echinokokken bei den Tieren desselben Geschlechtes verschieden hohen Alters zu berechnen. Dies ist mir bei Rindern nicht möglich, da ich nur Bullen unter 4 $\frac{1}{2}$ Jahren und Kühe und Ochsen in höherem Alter zur Untersuchung bekommen habe. Günstiger liegen die Verhältnisse bei den Schweinen. Unter den weiblichen und männlichen Tieren befanden sich sowohl alte als auch junge. Von 16 über 2 Jahre alten Tieren wurden 8 mit fertilen Echinokokken gefunden = 50 Proz.; von 69 unter 2 Jahren 60 = 87 Proz. Hieraus ist ersichtlich, daß bei jungen Schweinen mehr fertile Echinokokken vorhanden sind als bei alten.

Von einem Einfluß des Nähr- und Gesundheitszustandes der Tiere auf die Fertilität habe ich nichts bemerken können. Ich habe sowohl bei fetten und vollkommen gesunden als auch bei vollständig abgemagerten Rindern die Echinokokken fertil oder steril gefunden, ohne daß zwischen beiden ein Unterschied bestanden hätte. Schweine und Schafe waren zur Beobachtung nach dieser Richtung wegen ihres allgemein guten Nährzustandes und wegen des Fehlens erheblicher Krankheiten nicht geeignet.

Eingehender Berücksichtigung bedarf die Frage, ob die verschiedenen Organe einen Einfluß auf die Fertilität der Echinokokken ausüben.

a) Bei Rindern:

von 95 Lungen mit Echinokokken waren 20 fertil = 21,5 Proz.; von 37 Lebern 5 = 13,5 Proz.;

b) bei Schweinen:

von 16 Lungen mit Echinokokken waren 6 fertil = 37,5 Proz.; von 54 Lebern 41 = 76 Proz.;

c) bei Schafen:

von 36 Lungen mit Echinokokken waren 33 fertil = 91,7 Proz.; von 31 Lebern 29 = 93,6 Proz.; von 2 Milzen 1 = 50 Proz.

Die Echinokokken des Pferdes kommen hierbei nicht in Betracht, da ich in der Lunge nur einen Echinococcus gefunden habe.

Vergleichen wir vorstehende Zahlen, so ergibt sich, daß bei den von mir gefundenen Fällen bei Rind und Schwein die Echinokokken der verschiedenen Organe bez. ihrer Fertilität sich verschieden verhalten, indem beim Rind mehr Lungen- als Leberechinokokken fertil sind; bei Schweinen ist das Verhältnis umgekehrt, bei Schafen läßt sich kein Unterschied erkennen. Es scheint also, als ob das Prädilektionsorgan für die Lokalisation der Echinokokken auch für die Entwicklung dieser zu fertilen Echinokokken günstiger sei als die übrigen Organe.

Entzündungszuständen des befallenen Organes kann ich keinen Einfluß auf die Fertilität der Echinokokken zuschreiben. Die Lage der Echinokokken, ob subserös oder intraparenchymatös, ist ebenfalls für die Produktivität ohne Bedeutung. Nur konnte ich beobachten, daß bei fast vollständig subserös gelegenen Blasen die Bildung der Brutkapseln etwas später eintrat als bei den intraparenchymatösen desselben Organes.

Hieran möchte ich noch einige Bemerkungen über die Fertilität der von mir beobachteten Echinokokken mit Tochterblasen anschließen. Bei Rindern waren Membran und Hydatiden des Echinococcus endogenus fertil, des Echinococcus exogenus steril. Ebenfalls zeichnete sich durch vollständige Sterilität der dritte Echinococcus mit endogenen und exogenen Tochterblasen aus.

Drei endogene Echinokokken des Schweines waren fertil, zwei exogene Echinokokken steril, einer fertil. Auch hier war bei Fertilität der Membran Fertilität der Hydatiden, bei Sterilität der Membran auch Sterilität sämtlicher Hydatiden vorhanden. Im ersteren Falle befanden sich meist fertile und sterile Hydatiden in demselben Echinococcus. Die kleineren waren steril, die größeren fertil. Die kleinste von mir beobachtete fertile Hydatide war erbsengroß. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien.

[Aus dem staatlich therapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. R. Paltauf).]

Von

Privatdozent Dr. **R. Kraus**
Assistenten am Institute.

und

Dr. **J. Joachim**

Assistenten am path.-chem. Laboratorium
des Rudolfspitales.

Schon in den ersten Arbeiten „Ueber spezifische Niederschläge“ hat Kraus (1) im Sinne der Paltaufschen Theorie der Agglutination die Anschauung vertreten, daß das „Präzipitinogen“ der Bakterienkulturfiltrate identisch sein dürfte mit dem „Agglutinogen“ der Bakterien. Für diese Anschauung wurden in den späteren Arbeiten („Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge“, „Zur Theorie der Agglutination“) weitere experimentelle Beweise erbracht. Hauptsächlich waren es die Versuche über Bindung der Agglutinine durch die präzipitinogene Substanz der Filtrate, die Kraus und v. Pirquet (2) veranlaßten, ganz im Gegensatz zu Bail (3), Radziewsky (4), E. P. Pick (5), den unitarischen Standpunkt, d. h. die biologische Identität beider Substanzen, aufrecht zu erhalten.

Die in letzter Zeit veröffentlichten Untersuchungen von Joos (6) über verschiedene Agglutinine im Typhusimmunserum und verschiedene Agglutinogene in den Bakterien (Typhusbakterien) gaben uns Veranlassung, dieser strittigen Frage wieder näherzutreten. A priori war in Konsequenz der von uns vertretenen Anschauung zu erwarten, daß die von Joos für Agglutinogen und Agglutinin festgestellten Eigenschaften auch dem Präzipitinogen und Präzipitin zukommen dürften.

Die folgenden Untersuchungen gehen von der Arbeit von Joos aus und versuchen die von ihm gefundenen Tatsachen auf Präzipitinogen und Präzipitin auszudehnen.

I. Ueber die agglutinogene Substanz der Bakterien und über Agglutinin.

a) Immunisierung mit Bakterien.

Joos konnte durch einen einfachen Versuch nachweisen, daß das Agglutinogen des Typhusbacillus aus einem thermostabilen und einem thermolabilen Anteil zusammengesetzt ist, ebenso wie das zugehörige Agglutinin zwei solche Agglutinine enthält. Der Versuch, der dieser neuen Tatsache zu Grunde liegt, ist folgender:

Das mit lebenden Typhusbacillen gewonnene Agglutinin (vom Pferde) agglutiniert, sowohl unerwärmt als auch durch 1 Stunde auf 62° erwärmt, lebende Typhuskulturen ganz gleich; sobald man aber den Versuch derart modifiziert, daß man auf 62° erwärmte Typhusbacillen zur Agglutination verwendet, erhält man ein anderes Resultat. Das nicht erwärmte Typhusserum, dessen Agglutinationswert genau gekannt ist, vermag erwärmte Typhusbacillen nicht in derselben Höhe zu agglutinieren wie lebende Bacillen, der Agglutinationswert ist erheblich niedriger geworden. Während unerwärmtes Typhusserum unerwärmte Typhusbacillen noch in 50000facher Verdünnung zu agglutinieren vermochte, agglutinierte unerwärmtes Serum erwärmte Bakterien bloß bis zu 2000facher Verdünnung. Erwärmtes Serum, welches lebende Typhusbacillen ungeschwächt (1:50000) agglutinierte, gab mit erwärmten Typhusbacillen keine Agglutination.

Aus diesen Versuchen schließt Joos zunächst, daß die agglutinogene Substanz der Mikroben und die agglutinierende Substanz des Serums nicht einheitliche, sondern durch Vereinigung mehrerer Substanzen gebildete Körper sind.

In der agglutinogenen Substanz der Mikroben nimmt Joos zwei Körper an, die er als α -Agglutinin und β -Agglutinin bezeichnet; das α -Agglutinin ist die thermolabile Substanz, die bei 60–62° rasch zerstört wird, das β -Agglutinin ist die Substanz, welche der Wärme widersteht. Entsprechend diesen beiden Substanzen der Bakterien unterscheidet Joos im Serum das thermostabile a-Agglutinin und das b-Agglutinin, welches durch Erwärmung auf 60–62° modifiziert wird. Sowie die beiden Agglutinogene in den Bakterien nicht in gleicher Menge vorhanden seien, enthält auch das Immuserum nach Joos die Agglutinine in ungleicher Menge, das Serum ist reicher an a-Agglutinin als an b-Agglutinin.

Den Nachweis, daß ebenso wie in den Bakterien zweierlei Agglutinogene auch im Serum zweierlei Agglutinine seien, versucht Joos teils aus dem zuletzt erwähnten Versuche (erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien . . . keine Agglutination) abzuleiten, teils aus folgendem Bindungsversuch:

Nachdem in dem Gemisch von nicht erwärmtem Immuserum + erwärmten Typhusbacillen in einer bestimmten Verdünnung Agglutination aufgetreten ist, wird die obere Flüssigkeit einmal mit erwärmten, das andere Mal mit nicht erwärmten Typhusbacillen versetzt. Die erwärmten Bacillen werden nicht agglutiniert, wohl aber die nicht erwärmten.

„Dieser Umstand“, schließt Joos, „ist von größter Wichtigkeit, denn es folgt daraus, daß die erwärmten Typhusbacillen, mit Typhusserum in Verbindung gebracht, diesem Serum eine Substanz entzogen haben (da sie sich agglutinierten) und daß sie zugleich eine andere ohne Verwendung gebliebene Substanz in der Lösung zurückgelassen haben. Dies zeigt uns, daß die Einspritzung intakter Bacillen im tierischen Organismus die Bildung zweier verschiedener agglutinierender Substanzen hervorruft, deren eine eine gewisse Affinität zu den auf 60 bis 62° erwärmten Typhusbacillen aufweist, während die andere keine solche Affinität besitzt, wohl aber sich mit der nicht durch Wärme alterierten agglutinierbaren Substanz verbindet.“

Die erst angeführten Versuche von Joos konnten wir mit aggluti-

nierendem Typhusserum (Pferd, Kaninchen) und auch mit Choleraserum bestätigen und halten die Annahme zweier Agglutinogene im Leibe des Typhusbacillus, der Cholera vibrionen und zweier Agglutinine im Typhus-Choleraimmunserum für zulässig. Anders verhält es sich allerdings mit den von Joos aus seinen weiteren Versuchen gezogenen Schlüssen.

Zunächst wollen wir uns mit dem von Joos aufgestellten Satze beschäftigen, ob ein durch Immunisierung mit lebenden Bacillen gewonnenes Serum beide Agglutinine enthält und umgekehrt, ob ein mit erwärmten (60—62°) Bacillen erzeugtes nur β -Agglutinin aufweist und „nicht die mindeste Spur von α -Agglutinin“. Erst dann wollen wir die Beziehung der Agglutinine α und β zu den Agglutinogenen α und β einer Besprechung unterziehen, da die diesbezüglichen Versuche von Joos uns nicht danach angetan scheinen, die von ihm gezogenen Schlussfolgerungen zu gestatten.

Wir haben gesehen, daß ein mit lebenden Bacillen gewonnenes (erwärmtes und nicht erwärmtes) Immunserum nicht erwärmte und erwärmte Typhusbacillen in folgender Weise agglutiniert:

1) nicht erwärmtes Immunserum	+	nicht erwärmte Bacillen	Agglut.	$\frac{1}{50000}$
2) erwärmtes (62°) Serum	+	„	„	„	$\frac{1}{50000}$
3) nicht erwärmtes Serum	+	erwärmte (62°) Bacillen	„	$\frac{1}{5000}$
4) erwärmtes (62°) Serum	+	„	(62°) „	keine Agglut.

Der folgende Versuch, von Joos mit einem Immunserum angestellt, welches mit bei 62° durch 1 Stunde erwärmten Typhusbacillen gewonnen ist, gestaltet sich wesentlich anders:

1) nicht erwärmtes Immunserum	+	nicht erwärmte Bacillen	Agglut.	$\frac{1}{2500}$
2) erwärmtes (62°) Serum	+	„	„	„	$\frac{1}{2500}$
3) nicht erwärmtes Serum	+	erwärmte (62°) Bacillen	„	$\frac{1}{2500}$
4) erwärmtes (62°) Serum	+	„	(62°) „	$\frac{1}{1000}$

Vergleichen wir die beiden Versuchsreihen, so finden wir zunächst einen Unterschied darin, daß in der 1. Versuchsreihe das nicht erwärmte Serum die erwärmten Typhusbacillen wohl agglutiniert, jedoch nur in größerer Konzentration, wogegen das Serum der 2. Versuchsreihe (sub 3) sich für erwärmte Typhusbacillen ebenso wirksam erweist wie für nicht erwärmte. Eine weitere Differenz ergibt sich bei Verwendung des erwärmten Serums auf erwärmte Bakterien. In der 1. Versuchsreihe bleibt die Agglutination vollständig aus, in der 2. hat das Serum noch einen, wenn auch geringen, Agglutinationswert ($\frac{1}{1000}$). Um diese divergenten Befunde zu erklären, nimmt Joos an, daß das mit erwärmten Typhusbacillen gewonnene Immunserum „nicht die mindeste Spur von α -Agglutinin, sondern nur β -Agglutinin enthält. Da aber dieses Agglutinin nach Erwärmung auf 62° ebenso agglutiniert wie nicht erwärmtes ($\frac{1}{2500}$), kann es nicht thermolabil sein, müßte also zum Unterschiede vom β -Agglutinin des mit lebenden Bacillen gewonnenen Immunserums thermostabil sein.

Wir wollen zunächst in eigenen Versuchen sehen, ob die Resultate mit verschiedenartig hergestellten Immunseris so konstant sind, daß man sie als Typus hinstellen kann und ob sie derart gesetzmäßig verlaufen, daß die daraus gefolgerten Schlüsse ohne weiteres Geltung haben.

Die Versuche wurden mit Typhusimmunseris angestellt, welche einerseits durch Injektion mit lebenden, andererseits mit abgetöteten Typhuskulturen gewonnen waren. Der zur Agglutination benutzte Typhusstamm war in allen Versuchen der gleiche; es wurden stets gleiche Aufschwemmungen 24-stündiger Kulturen verwendet.

Versuch mit Serum vom Pferde „Edgar“, immunisiert mit 2-tägigen lebenden Bouillonkulturen von verschiedenen Typhusstämmen:

- | | |
|--|------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bacillen (Agarkult.) | Agglut. 1:10 000 |
| 2) erwärmtes (62°) Serum + erwärmte (62°) Bacillen | 1:10 000 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte (62°) Bacillen | keine Agglut.) |
| 4) erwärmtes (62°) Serum + „ (62°) „ | „ „ |

Schon dieser Versuch zeigt eine Abweichung vom Typus der 1. Versuchsreihe von Joos; nach Joos agglutiniert nicht erwärmtes Serum erwärmte Bakterien, wenn auch in relativ niedrigeren Werten, hier werden erwärmte Bakterien gar nicht agglutiniert. Verwendet man nun statt der Agarkulturen frische Bouillonkulturen, so gestaltet sich das Ergebnis folgendermaßen:

- | | |
|--|------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bouillonkulturen | Agglut. 1:10 000 |
| 2) erwärmtes (62°) Serum + „ (62°) „ | 1:10 000 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte (62°) Bouillonkulturen | 1:10 000 |
| 4) erwärmtes (62°) Serum + „ (62°) „ | keine Agglut. |

Wir sehen zunächst, daß das Resultat von der Art der Kultur, ob Agar- oder Bouillonkulturen zum Versuche verwendet wurden, abhängt. In einem späteren Kapitel über die Variabilität der präzipitinogenen Substanzen soll gezeigt werden, daß diese, die sich sonst wie die agglutinogenen Substanzen verhalten, einmal thermolabil, ein anderes Mal thermostabil sein können, daß also die Eigenschaft gegenüber höheren Temperaturen nicht konstant ist. Möglicherweise bedingt ein ähnliches Verhalten der agglutinogenen Substanzen den Ausfall der eben geschilderten Versuche.

Auch die folgenden Versuche lehren, daß das von Joos aufgestellte Schema sich nicht verallgemeinern läßt. Dieselben sind ausgeführt mit älteren Seris von Pferden, die mit abgetöteten Agar- und Bouillonkulturen immunisiert worden waren.

Versuch mit Typhusimmunserum des Pferdes „Elsa“ (wurde anfangs mit 3 abgetöteten Bouillonkulturen, späterhin und bis zum Schlusse mit durch Erwärmen auf 60° abgetöteten Agarkulturen immunisiert).

- | | |
|--|-------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien (Agarkultur) | Agglut. 1:20 000 |
| 2) erwärmtes (62°) Serum + „ erwärmte „ (62°) Bakterien | 1:20 000 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte (62°) Bakterien | keine Agglut. |
| 4) erwärmtes (62°) Serum + „ (62°) „ | keine Agglutinat. |

Dasselbe Verhalten beobachteten wir bei Anwendung von Bouillonkulturen; identisch fällt ferner der Versuch mit Serum des Pferdes „Zoroaster“ aus, welches 9 Monate lang mit durch Erwärmen auf 60° abgetöteten Typhusbouillonkulturen, hierauf mit auf gleiche Weise inaktivierten Agarkulturen desselben Stammes immunisiert worden war.

Vergleichen wir den Jooschen Versuch mit Immunserum, das durch Injektion erwärmter Bakterien gewonnen ist, mit dem eben angeführten, so ergibt sich auch hier insofern ein abweichendes Resultat, als hier das nicht erwärmte Serum die erwärmten Bakterien gar nicht agglutiniert, im Versuche von Joos hingegen Agglutination eintritt; es verhält sich also unser Serum anders als das Joosche, obwohl es auf dieselbe Weise i. e. durch Injektion von auf 60—62° erwärmten Typhuskulturen gewonnen worden ist. Dieses Serum sollte nach Joos nur a-Agglutinin, gar kein b-Agglutinin mehr enthalten.

1) In allen Versuchen wurde die genaue Auswertung bis zu den Grenzwerten der Sera ausgeführt.

Im Anschlusse an diese mit Pferdeserum ausgeführten Versuche seien hier zwei Versuche mit Kaninchenseris mitgeteilt:

Kaninchen No. 31 wurden 17 abgetötete (62°) und 4 lebende Agarkulturen subkutan einverleibt.

Kaninchen No. 254 wurde nur mit erwärmten (62°) Agarkulturen vorbehandelt, deren es 6 $\frac{1}{2}$ erhielt¹⁾.

Serum vom Kaninchen No. 31.

- | | |
|--|--|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien (Agar) | Agglut. bis 1:600 |
| 2) erwärmtes (62°) Serum + " " | " " 1:600 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte (62°) Bakterien | 1:50 Agglut.
1:100 partielle Aggl.
1:200 keine Agglut. |
| 4) erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien | " " |

Dieses Serum, welches vorwiegend mit erwärmten Bakterien gewonnen ist (nur 4 lebende gegenüber 17 abgetöteten Agarkulturen), zeigt das Verhalten jenes Immunserums von Joos, das bloß mit lebenden Kulturen gewonnen war.

Schon der nächste Versuch aber zeigte uns, daß der Versuchsausfall von der Art der hierzu verwendeten Kultur abhängig ist; denn nahmen wir statt Agarkulturen Bouillonkulturen, so war das Resultat das folgende:

- | | |
|---|-------------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien | Agglutination bis 1:400 |
| 2) erwärmtes Serum + " " | " " 1:400 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien | keine Agglutination |
| 4) erwärmtes Serum + " " | keine Agglutination |

Dieses Resultat stimmt vollständig überein mit den mit „Elsa“- und „Zoroaster“-Serum erhaltenen, also mit Seris, die, bloß mit erwärmten Bakterien gewonnen, sowohl Agar- als Bouillonkulturen gegenüber ein gleiches Verhalten zeigten; hier zeigte das teils mit erwärmten, teils mit lebenden Agarkulturen gewonnene Serum mit Agarkulturen ein anderes Ergebnis als mit Bouillonkulturen. Beide Versuchsergebnisse stimmen aber nicht überein mit dem, welches Joos mit durch erwärmte Bakterien gewonnenem Serum erhalten hat.

Serum vom Kaninchen No. 254.

- | | |
|--|---------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien (Agar) | Agglut. bis 1:1400 |
| 2) erwärmtes Serum + " " | " " 1:1400 |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien | keine Agglutination |
| 4) erwärmtes Serum + " " | keine Agglutination |

Auch dieser Versuch²⁾ beweist, daß den von Joos aufgestellten Typen keine Gesetzmäßigkeit zuzuschreiben ist; nach Joos müßte das durch abgetötete Kulturen gewonnene, nicht erwärmte Serum auf erwärmte Bakterien mit seinem vollen Agglutinationswerte einwirken.

Aus den eben mitgeteilten Versuchen läßt sich jetzt schon der Schluß ziehen, daß die von Joos aufgestellten Sätze nicht zu Recht bestehen. Es kann nicht als Dogma angenommen werden, daß ein mit lebenden Bacillen gewonnenes Immunserum stets beide Agglutinine (a und b) enthält, sowie auch ein mit erwärmten Bacillen erzeugtes Serum nicht notwendig nur b-Agglutinin und gar kein a-Agglutinin enthalten muß.

1) Die Kaninchensera kamen stets frisch zur Verwendung sowie auch das Serum des Pferdes „Edgar“, während die der Pferde „Elsa“ und „Zoroaster“ bereits 2 resp. 3 Jahre alt waren.

2) Eine Erklärung dieses Versuches findet sich weiter unten.

Vielmehr läßt sich der Gehalt eines Serums an Agglutininen (a- und b-) a priori nicht bestimmen, indem er einmal von der jeweiligen Zustandsphase der agglutinogenen Substanz, wie dies Paltauf (7) anzunehmen geneigt ist, und vom jeweiligen Rezeptorenapparate des Organismus abhängig sein kann. Daß die agglutinogenen Substanzen α und β von ein und demselben Bakterium in ihrem quantitativen Verhalten, in ihren Eigenschaften einem Wechsel unterworfen sein dürften, geht bereits aus den angeführten Versuchsdifferenzen bei Verwendung von Agar- oder Bouillonkulturen hervor. Daß der Rezeptorenapparat ein und derselben Species verschiedentlich auf ein Agglutinogen reagieren kann, geht aus den Versuchen Wassermanns (8) hervor und aus ähnlichen von Lipschütz (9). Letzterer konnte zeigen, daß das Serum vom Pferde „Elsa“ Partialagglutinine bis 1:400 enthielt (Hauptagglutinin 1:20000), während das Serum vom Pferde „Zoroaster“ keine aufwies, und doch waren beide Pferde mit ein und demselben Typhusstamme in fast gleicher Weise immunisiert worden. Vielleicht spielen auch die durch Präzipitoide der abgebauten Sera neu entstandenen Aviditätsunterschiede und möglicherweise deren Analoga in den agglutinogenen Substanzen eine Rolle beim Zustandekommen dieser Differenzen.

Ein nicht ganz gleiches Verhalten zeigte sich, als wir ein Choleraimmunserum auf Choleravibrionen einwirken ließen.

Versuch mit Serum des Pferdes „Diana“, immunisiert mit erwärmten (60—62°) Choleravibrionen (Agarkulturen).

1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien (Agarkult.)	Aggl. bis 1:10 000
2) erwärmtes (62°) Serum + „ „ „	1:100 Agglutination 1:1000 „ 1:5000 keine Agglutin.
3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte (62°) Bakterien	1:100 Agglutination 1:1000 „ 1:5000 keine Agglutin.
4) erwärmtes (62°) Serum + erwärmte (62°) Bakterien	1:100 Agglutination 1:1000 keine Agglutin.

Es findet sich hier insofern ein abweichendes Verhalten gegenüber den früheren mit Typhusimmunserum angestellten Versuchen, als in diesen das erwärmte Serum nicht erwärmten Bakterien gegenüber denselben Agglutinationswert ergab wie das nicht erwärmte Serum, während hier eine Abnahme des Agglutinationswertes zu beobachten war. Da außerdem das erwärmte Serum auch mit erwärmten Bakterien Agglutination — wenn auch in geringen Werten (1:100) — zeigte, so läßt sich unser Choleraimmunserum weder in den von Joos aufgestellten Typus I noch in den Typus II einreihen. Das Verhalten sub 3) und 4) läßt vielmehr annehmen, daß die Agglutinine a und b, wie auch die Agglutinogene α und β in gleichen Proportionen vorhanden sein dürften. (Etwa $\frac{1}{2}$ Agglutinin a und $\frac{1}{2}$ Agglutinin b, desgleichen $\frac{1}{2}$ Agglutinogen α und β .) Das abweichende Verhalten sub 4) können wir, ohne zu neuen Hypothesen greifen zu müssen, vorderhand nicht erklären. Der Versuch mit Cholera bouillonkulturen gestaltete sich nur insofern abweichend, als erwärmtes Serum erwärmte Cholera bouillonkulturen gar nicht agglutinierte.

Da die Agglutination nicht das wesentliche Thema der vorliegenden Arbeit bilden sollte, müssen wir es einer weiteren Arbeit vorbehalten, auf diese komplizierten Verhältnisse des näheren einzugehen.

b) Immunisierung mit Bakterienfiltraten.

Daß bakterienfreie Filtrate, dem Organismus einverleibt, im stande sind, Agglutinine hervorzurufen, ist seit längerer Zeit bekannt. So konnten Levy und Bruns (10), Winterberg (11) mit Filtraten aus Bouillonkulturen Agglutinine erzeugen. Winterberg gelang es auch, mit der aus Bouillonfiltraten durch Alkohol gefällten Substanz Agglutinine zu gewinnen, Pick erhielt andererseits mit Kochsalzextrakten aus Typhusagarkulturen ein Agglutinin. Es war also sicher, daß bakterienfreie Filtrate sowohl aus Bouillon- als auch aus Agarkulturen Agglutinine auszulösen im stande sind. Nachdem, wie sich in folgendem ergibt, es uns gelungen ist, ein analoges Verhalten der Filtrate zu Temperaturen, wie es von Joos für Bakterien gefunden wurde, aufzudecken und wir die biologische Identität dieser Substanzen anzunehmen geneigt waren, war es von ganz besonderem Interesse, zu erfahren, wie sich Agglutinine, gewonnen mit der einen oder anderen präzipitogenen Substanz, verhalten würden. — Diese Versuche sind einwandsfreier als die früheren. Bei der Immunisierung mit Bakterien müssen die beiden Substanzen, Agglutinogen α und β , mit in Kauf genommen werden und man ist nicht im stande, näheres über diese Substanzen auszusagen, wenn man nicht vor jedesmaliger Immunisierung die Kultur analysiert. Ein Mittel zur Trennung dieser beiden Substanzen in der Weise, daß man nur die eine Substanz bekäme, ohne ein Abbauprodukt (haptophore Gruppe) der anderen besitzen wir derzeit nicht. Es war aber nun durch den — später geschilderten — Nachweis, daß Typhusbouillonfiltrate in Bezug auf ihr Verhalten zu Temperaturen in der Regel gleichzusetzen sind der Substanz β der Bakterien, die Kochsalzagarextrakte dem Agglutinogen- α , möglich, durch Immunisierung mit einer dieser Substanzen reinere Versuchsbedingungen zu schaffen. Die zur Immunisierung verwendeten Filtrate wurden vorher auf ihr Verhalten zu Temperaturen und zu Pferdeimmenserum geprüft und nur solche Filtrate zu den Immunisierungsversuchen verwendet, die Verhältnisse aufwiesen, wie wir sie als typisch für Bouillonfiltrate einerseits und Kochsalzextrakte andererseits beobachtet hatten.

Kaninchen No.	Nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakt.	Erwärmtes Ser. + nicht erwärmte Bakterien	Nicht erwärmtes Ser. + erwärmte Bakterien	Erwärmtes Ser. + erwärmte Bakterien
110 immunis. mit 89 ccm eines 1 und 2 Jahre alten Typhusbouillonfiltrates	Agglutination 1:400 + 1:600 —	Agglutination 1:300 + 1:400 partiell	Agglutination 1:20 + 1:50 partiell 1:100 —	Agglutination 1:20 + 1:50 partiell 1:100 —
341 immunis. mit 99 ccm eines 2 Jahre alten Typhusbouillonfiltrates	1:400 + 1:500 partiell	1:300 + 1:400 partiell	keine	keine
474 immunisiert mit durch Alkohol aus Typhusbouillonfiltraten gefällter Substanz (70 ccm)	1:500 +	1:500 +	keine	keine

Es seien zunächst Versuche angeführt, die mit Kaninchenimmenserum gewonnen durch subkutane Injektion von nicht erwärmten Typhusbouillonfiltraten (= β -Agglutinogen) ausgeführt wurden.

Im nächsten Versuche wurde Serum benutzt, welches durch Immunisierung mit nicht erwärmten Typhuskochsalzagarextrakten (= α -Agglutinogen) gewonnen war.

Kaninchen No. 228 (immunisiert mit 78 ccm nicht erwärmter Kochsalzextrakte von 2-tägigen Typhusagarkulturen).

- | | | |
|---|---------------------|--------------------------|
| 1) nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien | Agglutination | 1:50 +
1:100 partiell |
| 2) erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakterien | Agglutination | 1:50 +
1:100 partiell |
| 3) nicht erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien | Agglutination | 1:50 +
1:100 partiell |
| 4) erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien | keine Agglutination | |

Wir sehen also auch in diesen Versuchen, obwohl mit Präzipitogenen angestellt, nicht das Resultat, welches nach den Annahmen von Joos zu erwarten wäre. Unsere Versuchsreihen weisen Ergebnisse auf, die eben darauf schließen lassen, daß die Verhältnisse weit komplizierter liegen, als Joos anzunehmen geneigt ist. Das Eine läßt sich aber aus diesen Versuchen sicher ableiten, daß sowohl im Immenserum als auch im Bakterienleibe zweierlei Substanzen gefunden werden können, doch scheint das quantitative Verhältnis dieser Substanzen zueinander kein konstantes zu sein, so daß sich aus dieser Unregelmäßigkeit bereits beim Erwärmungsversuche eine Reihe von Kombinationen ergeben, die einen gesetzmäßigen Verlauf solcher Versuche undenkbar machen. Wenn wir dazu noch die Möglichkeit annehmen, daß das Verhalten der Körper zu höheren Temperaturen als 60–62° auch nicht konstant ist, daß die Aviditäten der beiden Agglutinine zu den Agglutinogenen α und β auch Aenderungen unterliegen dürften, so wird es uns nicht wunder nehmen, wenn sich in diesen Versuchen so differente Resultate ergeben haben.

c) Immunisierung mit erwärmten Bakterienfiltraten.

In seiner Arbeit nimmt Joos (p. 779) an, daß das durch Erwärmung auf 62° seiner koagulierbaren Gruppe beraubte Agglutinogen α durch seine Zersetzungsprodukte spezielle Antikörper im Organismus zu produzieren im stande ist, welche aber nur wenig aktiv sind.

Durch die Versuche von Eisenberg und Volk (12) haben wir erfahren, daß das Agglutinogen aus einer koagulablen und einer bindenden (haptophoren) Gruppe zusammengesetzt ist. Durch höhere Temperaturen oder chemische Eingriffe läßt sich das Agglutinogen derart verändern, daß bloß die bindende Gruppe erhalten bleibt. Ein Gleiches haben wir nun auch für die präzipitogene Substanz festgestellt. Versuche, welche dartun sollten, ob derart verändertes Agglutinogen noch im stande wäre, Antikörper auszulösen und welcher Art diese Antikörper seien, liegen für Bakterien nicht vor.

Um diese Frage zu entscheiden und gleichzeitig die von Joos aufgestellte Behauptung nachprüfen zu können, wählten wir als Immunisierungsmaterial wieder Filtrate. Es wäre wohl möglich, durch hohe Temperaturen ein Bakterienmaterial, dessen Agglutinierbarkeit zerstört ist, herzustellen; ob aber durch Temperaturen (144°), wie sie nach den Versuchen von Eisenberg und Volk hierzu notwendig erschienen, die antigenen Substanzen nicht überhaupt geschädigt werden, ist nicht bekannt. Aus diesem Grunde wurden zur Immunisierung erwärmte

Typhuskochsalzagarfiltrate (= α -Agglutinogen) gewählt. Wie bereits erwähnt, ist die koagulable Gruppe des α -Präzipitinogens ebenso thermolabil wie die des α -Agglutinogens, indem sie bei 62° zerstört wird. Derartige Filtrate, deren koagulable Gruppe durch Erwärmung auf 62° (1 Stunde lang) zerstört wurde, nahmen wir zur Immunisierung. Das Resultat mit derart gewonnenen Seris ist in folgender Tabelle wiedergegeben:

Kaninchen No.	Nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmte Bakt.	Erwärmtes Ser. + nicht erwärmte Bakterien	Nicht erwärmtes Ser. + erwärmte Bakterien	Erwärmtes Ser. + erwärmte Bakterien
261 mit 77 ccm eines erwärmten Typhuskochsalzagarfiltrates immunisiert. Aderlaß am 8. Aug. 1903	Agglutination 1:20 + 1:50 partiell	Agglutination 1:20 + 1:50 partiell	Agglutination 1:10 + 1:20 partiell 1:50 keine	Agglutination 1:20 keine
Dasselbe. Aderlaß am 28. Aug. 1903	1:50 + 1:100 keine	1:50 + 1:100 keine	1:10 keine	1:20 keine
497 mit 78 ccm eines erwärmten Typhuskochsalzagarfiltrates immunisiert	1:200 + 1:300 partiell	1:200 + 1:300 partiell	1:20 keine	1:20 keine

Vergleichen wir diese Resultate zunächst mit den mit nicht erwärmten Kochsalzagarfiltraten gewonnenen, so geht daraus hervor, daß dieses Serum gleich den mit nicht erwärmten Kochsalzagarfiltraten erzeugten Bakterien zu agglutinieren im stande ist. Läßt man dieses Serum unerwärmt auf erwärmte Bakterien einwirken, so findet man einen Unterschied zu jenem Serum insofern, als dort der Agglutinationswert voll erhalten war, hier aber — in 2 Versuchen — die Agglutination überhaupt ausgeblieben war. (Uebrigens zeigt der Versuch mit dem Serum des Kaninchens No. 261, daß ein und dasselbe Tier zu verschiedenen Zeiten Sera liefern kann, die wechselnde Resultate geben.)

Vergleichen wir diese Resultate mit den mit nicht erwärmten Bouillonfiltraten = β -Agglutinogen erhobenen, so finden wir, daß sich dieselben in 2 Versuchen (Kaninchen No. 341 und 474) vollständig decken.

Hier wurde mit abgebautem α -Präzipitinogen = Agglutinogen, dort mit β -Präzipitinogen immunisiert und doch erhält man mit den entsprechenden Seris identische Resultate — ein weiterer Beweis dafür, daß sich aus der Natur der antigenen Substanz die Beschaffenheit des zu erwartenden Immunserums nicht voraussagen läßt. Aus diesen Versuchen läßt sich ferner mit Sicherheit folgern, daß ein seiner koagulablen Gruppe beraubtes Präzipitinogen, ebenso wie das nicht abgebaute und ebenso wie das Bakterium selbst im stande ist, Agglutinine hervorzurufen.

Wenn wir noch einmal am Schlusse dieser Betrachtungen die erhobenen Resultate zusammenfassend wiedergeben sollen, so können wir zunächst die Versuche Joos' insofern bestätigen, daß die Annahme zweier agglutinogener Substanzen als auch die zweier Agglutinine berechtigt erscheint. Die Agglutinine

lassen sich sowohl mit Bakterien als auch mit Bakterienfiltraten (Präzipitino-genen) erzeugen. Die Bildung des Agglutinins hängt nicht von der koagulablen Gruppe der Antigene ab, man kann vielmehr auch mit einem der koagulablen Gruppe beraubten Agglutinogen (Präzipitino-gen) Agglutinin erzeugen. Die Art der entstandenen Agglutinine hängt nicht direkt von einem bestimmten Agglutinogen ab. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Kritische Bemerkungen zur Arrheniusschen Agglutinin-Verteilungsformel.

[Aus dem kgl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Prof. Max Neisser.

In einem Aufsätze „Zur physikalischen Chemie der Agglutinine“ (Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. XLVI. p. 415) hat Arrhenius versucht, die Protokolle der bekannten Arbeit von Eisenberg und Volk¹⁾ rechnerisch zu verwerten und ist dabei zu dem Resultate gelangt, daß das zu einer Bakteriensuspension zugesetzte Agglutinin sich sowohl im Bakterium wie in der Suspensionsflüssigkeit löst, aber in verschiedenem Lösungsverhältnisse, und daß nun entsprechend dem Guldberg-Waageschen Gleichgewichtssatze (deren Anwendbarkeit stillschweigend sie ausgesetzt sind, aber von Biltz [Nachr. der k. Gesellsch. Göttingen. 1904. Heft 1] bezweifelt worden ist) stets ein bestimmtes Verteilungsverhältnis zwischen dem in den Bakterien gelösten Agglutinin und dem in der Suspensionsflüssigkeit freien Agglutinin besteht. Ändert man willkürlich die Konzentration des Agglutinins in einem der beiden Faktoren (Bakterien oder Flüssigkeit), so stellt sich alsbald das Gleichgewicht der Konzentration wieder her. Und Arrhenius gibt für das Verteilungsverhältnis eine Formel, die er auf Grund der Eisenberg-Volkschen Zahlen berechnet hat. Da die Schlüsse von Arrhenius, wenn sie zu Recht beständen, nicht nur für das Agglutinationsphänomen, sondern auch für die Verteilungsverhältnisse kolloidaler Substanzen überhaupt eine erhebliche Bedeutung hätten, so wird man zunächst eine kritische Sichtung des Urmaterials, welches den Berechnungen von Arrhenius zu Grunde gelegen hat, vornehmen müssen. Arrhenius selbst ist natürlich auf dem Gebiete der Agglutination fremd, und er wird sich deshalb kaum bewußt geworden sein, wie wenig geeignet die Eisenberg-Volkschen Zahlen für eine Berechnung sind. Er scheint aber in der Literatur Bestätigungen der Volk-Eisenbergschen Zahlen gefunden zu haben, welche ihm dieselben als anerkannt erscheinen ließen. Mir ist indessen eine experimentelle Bestätigung des hier in Betracht kommenden Teiles der Volk-Eisenbergschen Arbeit nicht bekannt.

Was nun meine (übrigens bereits im Frühjahr 1903 mündlich geäußerten) Bedenken betrifft, so beziehen sie sich auf die angewandte

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 155.

Methodik. Eisenberg-Volk verwandten in den in Rede stehenden Versuchen lebende Kulturen, welche sie (eine Agarkultur in 15 ccm bei physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt) sowohl zur Absorption des Agglutinins als auch zur Messung des nicht absorbierten Agglutininrestes benutzten. Für die Absorption des Agglutinins nahmen sie 15 ccm einer lebenden Typhuskulturaufschwemmung und setzten 15 ccm ihres agglutinierenden Serums (bezw. Verdünnung desselben) hinzu. Diese Proben standen 2 Stunden bei 37° und 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Darauf wurde die Flüssigkeit abpipettiert und zur Messung des nicht absorbierten Agglutininrestes verwendet, indem je 1 ccm dieses Restes (bezw. Verdünnung des Restes) zu 1 ccm einer lebenden Typhuskulturaufschwemmung kamen. Auch diese Proben standen 24 Stunden. „Als Einheit des Agglutinins bezeichnen wir jene geringste Menge der aktiven Serums substanz, welche gerade hinreicht, 1 ccm der oben erwähnten einfachen Aufschwemmung innerhalb 24 Stunden zur unvollkommenen Agglutination zu bringen, d. h. zur Bildung eines deutlichen, scharf abgegrenzten Niederschlages mit leicht getrübert, darüberstehender Flüssigkeit.“ Durch Berechnung wurde dann gefunden, wieviel Agglutinineinheiten zugegeben, wieviel absorbiert waren.

Diese Versuchstechnik ist nichts weniger als einwandfrei, sofern es sich um exakte quantitative Versuche handelt. Denn die Bakterien, sowohl in den Absorptionsreihen wie auch in den zur Messung des Agglutininrestes angesetzten Proben, vermehren sich innerhalb 24 Stunden, vermehren sich sogar erheblich und, was noch wichtiger ist, nicht gleichmäßig. Nehmen wir an (es fehlt darüber jede Angabe), daß die von Eisenberg-Volk verwandten Sera den üblichen Karbolzusatz enthielten, so wird in den Gemischen mit Voll-, Halb- und Viertelserum kaum eine Vermehrung der Agglutinin-absorbierenden Keime eingetreten sein, wohl aber in den Mischungen mit geringerer Serum- — also Karbolkonzentration. Enthielt aber das Serum kein Karbol, so kann es nur, da es keimfrei sein mußte, die normalen bakteriziden Stoffe enthalten haben. Aber auch diese würden in den stärkeren Konzentrationen gehemmt haben, nicht aber in den schwächeren Konzentrationen. Enthielt das Serum aber weder Karbol noch bakterizide Stoffe, so war es mit größter Wahrscheinlichkeit nach 2×24 Stunden (denn so lange mindestens dauert ein Versuch) nicht mehr frei von fremden Keimen, und was dann in den Proben vor sich geht, ist überhaupt nicht mehr übersehbar. Dazu kommt, daß in den konzentrierteren Gemischen eines hochwertigen Serums sehr schnell komplette Agglutination mit Bildung großer Haufen eintritt, während sich in den verdünnten Gemischen nur partielle Agglutination, und auch diese erst nach vielen Stunden, einstellt. Als weiteres störendes Moment kommt die so sehr verschiedene Reaktion von konzentrierten und stark verdünnten Serumgemischen in Betracht. Aus allen diesen Gründen kann es nicht wunder nehmen, wenn die relative Absorption in den konzentrierten Serumgemischen sich anders gestaltet als in den verdünnten Gemischen. Es ist natürlich keineswegs ausgeschlossen, daß die von Eisenberg-Volk gefundenen Tatsachen trotz dieser Einwände zu Recht bestehen und auf tieferliegende Ursachen, als die hier angeführten, zu beziehen sind; was ich aber bestreite, ist, daß es auf Grund ihrer Zahlen möglich sein soll, eine Berechnung aufzustellen, welche irgend einen Wert für die Erklärung der Tatsachen besitzt.

Ist aber überhaupt die Agglutinationsmethode zu solch feinen Ver-

suchen geeignet und ist denn die Aggl.-E. von der Eisenberg-Volk ausgehen, eine so sicher bestimmbare Größe? Daß sie es bei Verwendung lebender Kulturen nicht ist, daß da die Bewertung eines Serums von Tag zu Tag schwanken kann, davon kann man sich leicht überzeugen. Aber selbst bei Verwendung toter Kulturen, die ja von hier aus wieder in allgemeinere Aufnahme gebracht worden ist, ist die Agglutinationstechnik an gewisse Grenzen gebunden, die durch die Natur des Substrates gegeben sind. In jeder Kultur finden sich Bakterien verschiedenen Alters, verschiedenen Entwicklungsstadiums, verschiedener Agglutinabilität. Man kann deshalb Agglutinationsreihen nur in verhältnismäßig groben Schlägen machen, wenn man deutliche Grenzen und nicht zufällige Resultate erhalten will. Nach meiner Erfahrung kann man — um bei der Eisenberg-Volkschen Ausdrucksweise zu bleiben — stets entscheiden, ob eine oder zwei Aggl.-E. vorliegen, und deshalb habe ich schon vor Jahren betont, daß man bei Agglutinationsversuchen „Halbschläge“¹⁾ machen soll, daß aber feinere Schläge im allgemeinen keinen wesentlichen Wert hätten. Nach den Zahlen von Eisenberg-Volk müßte man aber noch 1,1 von 1,0 Aggl.-E. (und noch viel feiner) unterscheiden können. Und ich bestreite, daß das — zumal bei Verwendung lebender Kulturen — möglich ist. Leider geben Eisenberg-Volk für diese Versuche kein einziges genaues Protokoll ihrer Versuchsanordnung und ihrer Beobachtungsreihen an, aus denen man die Fehlerbreite abschätzen könnte, aber aus später zu anderen Zwecken angeführten Protokollen geht deutlich hervor, wie wenig scharf bestimmbar ihr Grenzwert war. Dazu kommt, daß die hier in Betracht kommenden Versuche augenscheinlich einmalige Versuche sind; es wäre aber von großer Bedeutung gewesen, zu sehen, ob ein Absorptionsversuch bei ganz gleicher Wiederholung gleiche Resultate ergeben hätte. Wir können nach vielfachen Nachprüfungen nur sagen, daß wir bei 2 unter ganz gleichen Bedingungen angesetzten Versuchen gleiche Resultate nicht immer erhalten haben. Schließlich aber fehlt eine Kontrollreihe, die bei solch subtilen Versuchen jedenfalls hätte gemacht werden müssen: Die verschiedenen Serumkonzentrationen, die zu den Absorptionsversuchen benutzt wurden; wurden bezüglich ihres Gehaltes an Aggl.-E. aus dem Vollserum berechnet, nicht geprüft. Es hätte nun unbedingt eine Kontrollreihe mit denselben Serumverdünnungen ohne Bakterien angesetzt werden müssen, die unter genau den gleichen Bedingungen wie die Versuchsreihen (2 Stunden 37°, 24 Stunden Zimmertemperatur) hätten stehen müssen und danach auf ihren Gehalt an Aggl.-E. zu prüfen gewesen wären. Nur diese Differenz zwischen der Menge von Aggl.-E., die in der Kontrollreihe tatsächlich vorhanden war, und derjenigen, die in den Versuchsreihen gefunden wurde, hätte maßgebend sein dürfen. Diese Kontrollreihe ist deshalb wichtig, weil es vorkommt, daß verdünntes Agglutinin, das man unter den angegebenen Bedingungen stehen läßt, eine deutliche Abschwächung zeigt, ohne daß Bakterien zugesetzt sind.

Typhusagglutinin verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung:

1 : 2

1 : 100

1) Neisser, M. und Lubowski, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901. No. 13.

Beide Proben bleiben bei 37° 2 Stunden, darauf bei Zimmertemperatur 24 Stunden, darauf Ausfärbung.

	$\frac{1}{2}$ Serum	$\frac{1}{100}$ Serum
1: 1 000	+	+
1: 2 000	+	+
1: 4 000	+	+
1: 8 000	+	0
1: 16 000	0	0

Von methodischen Einwänden wäre schließlich noch folgender zu erwähnen: Eisenberg-Volk sahen in ihren Prüfungsproben keine vollständige, sondern eine inkomplette Agglutination; in ihren Absorptionsgemischen mußten sie also ebenfalls in den schwächeren Konzentrationen Trübung mit Bodensatz haben. Ob sie zentrifugiert haben, ist nicht angegeben, ob sie aber selbst bei eventueller Zentrifugierung die Hauptmenge der lebenden Keime wirklich entfernt haben, ist durchaus nicht sicher.

Wie wenig Arrhenius die Versuchstechnik überschaut, geht aus einer Bemerkung p. 417 hervor. Er meint da, daß beim Abpipettieren nach der Absorption doch stets ein gewisser Verlust von Flüssigkeit stattfände und daß sich das in dem Resultate bemerkbar mache, wenn die Flüssigkeit eine Aggl.-E. oder etwas mehr enthalte. Arrhenius hat da übersehen, daß die Flüssigkeit überhaupt nur titrierbar ist, wenn sie eine Aggl.-E. oder mehr in 1 ccm enthält. Da aber zur Absorption von Eisenberg-Volk stets 30 ccm benutzt wurden, so ist es natürlich ganz gleichgültig, ob beim Abpipettieren ein Verlust von einigen Kubikcentimetern stattfindet. Auf diese Weise ist also die Nichtübereinstimmung von berechneten und beobachteten Werten, wie sie in den Köpfen der Tabelle vorhanden ist, nicht erklärbar. Diese Abweichungen der beobachteten von den berechneten Werten sind in den Köpfen der 4 Tabellen, aus denen Arrhenius seine Formel ableitet, sehr erheblich.

Beobachtete Werte	Berechnete Werte
0	2,1
0	4,0
<hr/> 0	<hr/> 1,4
0	2
0	4
1	6
15	21
<hr/> 1	<hr/> 2,7

Zur Erklärung dieser auffallenden Differenzen weist Arrhenius auf eine Unterredung mit einem der Autoren hin, der ihm gesagt hat, daß diese Versuche recht schwierig seien und daß daher solche Nichtübereinstimmungen wohl vorkommen könnten. Deshalb klammert Arrhenius die aus diesen Zahlen berechneten Konstanten, die gar nicht mit den übrigen übereinstimmen, ein.

Es dürfte zunächst auffallen, daß diese großen Abweichungen alle in den Köpfen der Tabellen vorkommen, also in jenen Zonen, wo stark verdünnte Sera zu Absorptionsversuchen benutzt wurden. Es ist aber dabei eins zu berücksichtigen. Bei Benutzung eines Serums ist es natürlich bezüglich des Fehlers, der durch die Manipulationen des Verdünnens gemacht wird, ganz gleichgültig, ob ein Voll- oder Halbserum

zur Absorption benutzt wird, dessen Wert nachher austitriert wird, oder ob mit dem stark verdünnten Serum der Absorptionsversuch gemacht wird. Denn wenn ein Serum z. B. 20000 Aggl.-E. in 1 ccm besitzt, so muß es ja zu seiner Austitrierung mindestens 20000fach verdünnt werden, da ja unsere Methoden immer nur die Möglichkeit geben, zu entscheiden, ob die einfach wirksame (agglutinierende oder lösende etc.) Menge vorhanden ist oder ob sie nicht mehr vorhanden ist. Und wenn dasselbe Serum in 5000facher Verdünnung zu Absorptionsversuchen benutzt wurde, so braucht es nunmehr nur noch entsprechend weniger verdünnt zu werden. Der Verdünnungsfehler ist also bei dieser Versuchsordnung der gleiche, ob es sich um konzentrierte oder um verdünnte Gemische handelt. Und auch der Beobachtungsfehler, der der Agglutination anhaftet und dessen Größe, wie oben erörtert wurde, zumal bei Verwendung lebender Kulturen erheblich ist, ist der gleiche, ob es sich um die Austitrierung konzentrierter oder verdünnter Gemische handelt. Es ist deshalb in keiner Weise verständlich oder entschuldigbar, warum in den Tabellen von Eisenberg-Volk die in den Köpfen der Tabellen stehenden Werte anders angesehen werden sollen als die anderen Werte, und die Nichtübereinstimmung in den Köpfen der Tabellen (1 gegen 6, 0 gegen 4) sind als ganz enorme Nichtübereinstimmungen anzusehen, die nicht einfach ignoriert werden dürfen, die vielmehr als direkte Beweise gegen die Richtigkeit der Arrheniusschen Formel anzusehen sind — unter der Voraussetzung, daß man überhaupt die Zahlen Eisenberg-Volks für rechnerisch verwertbar hält. Entweder verzichtet man also überhaupt auf die rechnerische Verwertung der Eisenberg-Volkschen Zahlen, oder man muß alle Werte, die in gleicher Weise gewonnen sind, als gleichberechtigt betrachten. Tertium non datur. Eine willkürliche Eliminierung derjenigen Werte aber, die sich nicht einfügen wollen ist nicht angängig.

Dazu kommt, daß Eisenberg-Volk noch über weitere in anderer Weise angestellte Versuche berichten, die, wie Arrhenius selbst zugibt, mit seiner Formel nicht übereinstimmen. Und der Satz von Arrhenius: „Diese Versuche bedürfen einer Revision“ ist jedenfalls keine Erklärung für die Nichtübereinstimmung von Versuch und Formel.

Eine besondere Besprechung verdient noch die auf p. 420 von Arrhenius abgedruckte Tabelle VII. Hier ist Arrhenius ein Druckfehler der Eisenberg-Volkschen Arbeit entgangen, welchen er mitabdruckt. Eisenberg-Volk haben Vollserum (20000 Aggl.-E.), Halbs Serum (10000 Aggl.-E.) etc. zu Absorptionsversuchen verwendet. Durch einen Druckfehler steht 11000 statt 10000 und auch bei Arrhenius steht 11000¹⁾. Mit Hilfe seiner Formel berechnet er daraus die Konstante 23,9, während sie 28,2 heißen muß. Setzt man nun diesen richtigen Wert ein, so ergibt sich in dieser Tabelle folgende Reihe von Konstanten:

24	
16,4	
6,5 ?	(wird von Eisenberg-Volk auf einen „vermutlichen“ Fehler zurückgeführt)
16,5	
28,2	
21,5	

1) Diesen Druckfehler hat Arrhenius auch in seinen Aufsatz (Bull. de l'Inst. Pasteur. 1904. No. 13) übernommen.

Man fragt sich bei einer solchen Reihe wohl mit Recht, ob man auf diese Zahlen noch den Ausdruck „Konstante“ anwenden darf. Nicht viel anders sehen die Konstantenreihen der anderen Tabellen aus. So lauten die Konstanten der Tabelle II p. 417:

25,3	}	(hier hat Arrhenius übrigens den Mittelwert irrtümlich berechnet, er ist nicht 24,6, sondern 25.1)
33,2		
20,0		
21,8		

Eine andere Reihe zeigt folgende Konstanten:

23,0	(von Arrhenius eingeklammert, aber, wie oben gezeigt wurde, mit Unrecht)
12,7	
11,8	
8,4	
10,6	
etc. etc.	

Ich habe mich bisher darauf beschränkt, zu zeigen, daß die Eisenberg-Volkschen Zahlen an sich nicht die Aufstellung der Arrheniusschen Formel rechtfertigen, der sie zum Teil direkt widersprechen, habe weiter darauf hingewiesen, daß die angewendete Methodik unzureichend und durch Kontrollreihen nicht genügend gesichert ist, um die Zahlen für eine rechnerische Verwertung geeignet erscheinen zu lassen, und habe schließlich betont, daß überhaupt die Agglutinationsmethode sich nicht zur Anstellung solch feiner Reihen eignet.

Hiernach könnten für uns sowohl die Formel von Arrhenius wie die aus ihr sich ergebenden Konsequenzen als erledigt gelten. Wir verfügen indessen über Versuche, welche direkt der Vorstellung von Arrhenius widersprechen, und von denen einer, den Herr Dr. Smidt unter meiner Leitung angestellt hat, hier Platz finden möge.

Ein Serum, das 4000 Aggl.-E. in 1 ccm enthielt, wurde mit Kultur zu gleichen Teilen versetzt. Nach der Absorption waren von den 2000 Aggl.-E. nur noch 1500 vorhanden, also 500 von den Bakterien absorbiert. Die agglutinierten Bakterien wurden nach Abgießen des Serums in 2 gleiche Teile geteilt, und der Rest einerseits auf 5, andererseits auf 25 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt. Nach der Arrheniusschen Vorstellung hätte nun wieder Abgabe des Agglutinins bis zum Gleichgewichtszustande eintreten müssen, und zwar hätten die 25 ccm an Aggl.-E. absolut mehr enthalten müssen als die 5 ccm. Das war aber nicht der Fall, beide Proben enthielten vielmehr etwa 25 bis 30 Aggl.-E. in der Gesamtflüssigkeit (5—6 Aggl.-E. pro 1 ccm bzw. etwa 1 Aggl.-E. pro 1 ccm).

Ein in anderen Zahlenverhältnissen angestellter Versuch ergab ein analoges Resultat. Es folgt aus alledem, daß die Arrheniussche Formel, solange nicht bessere Grundlagen vorliegen, für die Erklärung des Agglutinationsphänomens ohne Bedeutung ist.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität Prag
(Vorstand Prof. Hueppe).]

Von Dr. Edmund Weil.

Daß Typhusbacillen die einstündige Erwärmung auf 60° vertragen, ohne daß ihre Agglutinabilität verloren geht, ist bekannt, ebenso auch, daß das agglutinierende spezifische Serum einer noch höheren Temperatur ausgesetzt werden kann, ohne seine Agglutinationskraft einzubüßen (Bail). Da also weder Bakterien noch Serum bei 60° geschädigt werden, lag die Frage nahe, welches die Grenztemperatur für den Eintritt der Agglutination sei und wie dieselbe bei den höheren Temperaturen verlaufe.

Es wurden zunächst Typhusbacillen der Untersuchung unterzogen. Verwendet wurde jedesmal eine 24 Stunden bei 37° gewachsene Bouillonkultur, die stets deutlich und gleichmäßig trübe war.

Das Serum stammte von einem Kaninchen, das folgende intravenöse Injektionen erhielt:

- | | | |
|-----------|---|---------------------------|
| 4. Febr. | 1/2 Agarkultur, | 1 Stunde auf 60° erwärmt, |
| 15. Febr. | 1 Agarkultur, | 1 " " " " |
| 21. März | 2 Agarkulturen, | 1 " " " " |
| 28. März | Blutentnahme aus der Jugularis externa. | |

Das an diesem Tage entnommene Serum wurde ohne Zusatz von Antiseptis im Eisschrank aufbewahrt und wurde der Uebersicht halber in allen Versuchen ausschließlich verwendet. Bei der Kürze der Zeit, welche die Zusammenstellung der Versuche in Anspruch nahm, büßte dasselbe nichts an seiner Wertigkeit ein.

Da die gewöhnliche Einteilung in vollkommene, unvollkommene und negative Agglutination sich in diesen Versuchen nicht als genügend herausstellte, sondern sich die Notwendigkeit ergab, die einzelnen Phasen der Agglutination zu beobachten, so seien die einzelnen Stadien derselben an dem in diesen Versuchen verwendeten Serum festgestellt und in der folgenden Tabelle veranschaulicht.

Man entnimmt daraus, daß die Agglutination etwa folgendermaßen in Erscheinung tritt. Bevor noch Flöckchen sichtbar sind, wird eine Bewegung, ein Wogen in der gleichmäßig trüben Bouillon merkbar; hierauf bilden sich, nur bei der schärfsten Beleuchtung (Auerlicht) wahrnehmbar, allerfeinste Flöckchen, die dann je nach der Konzentration des agglutinierenden Serums mehr oder weniger schnell größer werden, die groben Flocken sinken dann zu Boden und die überstehende Flüssigkeit ist, je nachdem alle Bakterien ausgefällt sind, also auch von der Agglutinationskraft des Serums abhängig, entweder klar, oder je nach der Anzahl der sich in ihr befindlichen Flöckchen mehr oder weniger trübe. Es ist also die Stufenleiter der Agglutination etwa folgende. Wogen in der gleichmäßig trüben Flüssigkeit, allerfeinste Flöckchen, kleine Flöckchen, grobe Flocken, beginnende Bodensatzbildung, Bodensatz mit trüber bis klarer überstehender Flüssigkeit. Diese Unterschiede gelten jedoch nur für eine bestimmte Zeit, in unseren Versuchen 2 Stunden bei 37°;

Tabelle I.

	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1:100	größere Flöckchen	grobe Flocken mit beginnender Boden- satzbildung	Bodensatz mit trü- ber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit leicht trüber überstehen- der Bouillon
1:200	idem	grobe Flocken	Bodensatz mit trü- ber überstehender Bouillon	Bodensatz mit trü- ber überstehender Bouillon
1:300	kleine Flöckchen	idem	Bodensatz mit trü- ber überstehender Bouillon	Bodensatz mit trü- ber überstehender Bouillon
1:600	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	grobe Flocken mit beginnender Boden- satzbildung	Bodensatz mit trü- ber überstehender Bouillon
1:1200	Wogen	idem	grobe Flocken	beginnende Boden- satzbildung
1:3000	trübe	feinste Flöckchen	feine Flöckchen	kleine Flöckchen
1:6000	idem	idem	feinste Flöckchen	feine Flöckchen
1:12 000	idem	trübe	trübe	feinste Flöckchen

nach 12—24 Stunden Zimmertemperatur verwischen sich diese Diffe-
renzen, indem allmählich in allen Röhrchen mehr oder weniger voll-
kommene Agglutination eintritt.

Es wurde also die Agglutinationsprüfung bei 50, 55, 60 und 65°
im Wasserbade vorgenommen, wie aus Tabelle II ersichtlich ist.

Tabelle II.
Serumverdünnung 1:1200.

	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde
50°	kleine Flöckchen	grobe Flocken, beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit fast klarer überstehender Flüssigkeit
55°	grobe Flocken	grobe Flocken, beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit fast klarer überstehender Flüssigkeit
60°	idem	grobe Flocken	grobe Flocken
65°	kleine Flöckchen	allerfeinste Flöckchen	Wogen

Zunächst ist aus dieser Tabelle zu ersehen, daß die Agglutination
bei den höheren Temperaturen viel rascher eintritt. Bei Vergleich mit
Tabelle I merkt man, daß nach 30 Min. bei 50 und 55° bereits Boden-
satzbildung eingetreten ist, während bei 37° erst feine Flöckchen auf-
treten. Es ist also das Temperaturoptimum für die Agglu-
tination der Typhusbacillen nicht 37°, sondern liegt
zwischen 50 und 55°. Im folgenden sei der Kürze halber stets
nur 55° gesagt. Bei 60° tritt zwar ebenfalls diese schnelle Agglutination
ein, es kommt aber schon nicht so leicht zur Bodensatzbildung, scheint
also doch schon eine Verlangsamung gegenüber 55° vorhanden zu sein.

Bemerkenswert ist die Agglutionserscheinung bei 65°. Es tritt auch,
und zwar verzögert, Flöckchenbildung ein. Die Flöckchen werden aber
im Verlaufe der Zeit immer kleiner und sind nach etwa 1 Stunde ge-
schwunden, so daß die Bouillon wieder gleichmäßig trübe ist. Da nun
das Serum eine viel höhere Temperatur als 65° aushält, so muß es die

agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen sein, welche bei längerer Einwirkung dieser Temperatur schon geschädigt wird, wie auch Eisenberg und Volk im Gegensatz zu Nicolle festgestellt haben.

Der Vollständigkeit halber wurde die Einwirkung der verschiedenen Serumkonzentrationen auf die Typhusbacillen untersucht, um die zeitlichen Unterschiede in der Schnelligkeit des Eintrittes der Agglutination bei 37° und 55° wahrzunehmen, worüber die folgende Tabelle (p. 680) Aufschluß gibt.

In allen Serumverdünnungen tritt also die schnellere Agglutination bei 55° gegenüber 37° ein, nur in der Verdünnung 1:12000 nicht, welches Verhältnis sich nach 24 Stunden langem Stehen bei Zimmertemperatur nicht ändert. Es reicht eben die Agglutinationskraft des Serums in dieser Verdünnung nicht mehr aus, die Bakterien weiter als bis zur bezeichneten Agglutination zu beeinflussen. Vollständige Agglutination tritt bei 37° selbst in den starken Serumkonzentrationen in 2 Stunden nicht ein, indem die überstehende Flüssigkeit leicht trübe bleibt, teils durch Flöckchen, die sich in ihr befinden, teils durch die noch nicht agglomerierten Bakterien. Bei 55° ist jedoch die überstehende Bouillon fast klar; es tritt also die Agglutination nicht nur viel schneller, sondern auch viel vollkommener ein.

Daß es sich bei dieser schnellen Reaktion um eine echte Agglutination, nicht vielleicht um eine Pseudoagglutination oder Präzipitation handelt, ergab die Kontrolle mit normalem Serum, wobei die Röhren stets trübe blieben, ferner zeigte die mikroskopische Untersuchung stets das typische Bild.

Während es nicht angezeigt erscheint, die Röhren länger als 2 Stunden einer Temperatur von 37° auszusetzen, da nach dieser Zeit schon ein merkliches Wachstum der Bakterien eintritt, könnte man die Temperatur von 55° beliebig lange einwirken lassen, ohne diesen Umstand in Rechnung ziehen zu müssen. Es wird sich jedoch kaum diese Notwendigkeit ergeben, da eine Agglutination, die nach 2 Stunden bei 55° nicht eingetreten ist, wohl nicht mehr zu stande kommt.

Das Fickersche Typhusdiagnostikum wurde ebenfalls daraufhin geprüft und es zeigten auch diese Bakterien bei 55° eine viel schnellere und vollkommene Agglutination als bei 37°. Daß diese Beschleunigung bei 55° auch für das Serum typhuskranker Menschen und für das Fickersche Typhusdiagnostikum gelten, hatten Herr Assistent Dr. Hoke, der diesen Befund auf der Klinik von Jacksch, und Herr Dr. G. Salus, der es in seinem Laboratorium nachuntersuchte, die Freundlichkeit, mir zu bestätigen.

Es galt nun, festzustellen, worauf diese Beschleunigung der Agglutination bei 55° beruht. Folgende Möglichkeiten kommen da in Betracht. Erstens kann am Serum eine Veränderung vor sich gehen und zwar derart, daß eine die Agglutination hemmende Substanz bei 55° zerstört wird, zweitens konnte bei dieser Temperatur die agglutinierbare Substanz der Bakterien günstig beeinflußt werden, drittens konnte es an dem Zusammenwirken von Serum und Bakterien liegen, gewissermaßen als eine schnellere Reaktion bei höherer Temperatur. Dies mußte sich entscheiden lassen, wenn man Bakterien und Serum getrennt erwärmt, dann einerseits die nichterwärmten Bakterien mit dem nicht erwärmten und erwärmten Serum, andererseits die erwärmten Bakterien mit sowohl nicht erwärmtem als auch erwärmtem Serum zusammenbringt. In der folgenden Tabelle ist der Versuch nach dieser Richtung hin zusammen-

Tabelle III.

bei Brutschranktemperatur 37°				zwischen 50—55°				
	10 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	10 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1 : 100	kleine Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Bouillon	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Bouillon	Bodensatz mit fast klarer überstehender Bouillon	Bodensatz mit klarer überstehender Bouillon
1 : 200	idem	grobe Flocken	idem	idem	Bodensatz mit trüber überstehender Bouillon	idem	idem	idem
1 : 300	feinsteflöckchen	idem	Bodensatz mit trüber überstehender Bouillon	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	beginnende Bodensatzbildung	idem	idem	idem
1 : 600	Wogen	kleine Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Bouillon	grobe Flocken	idem	idem	idem
1 : 1200	trübe	feinste Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	idem	Bodensatz mit trüber überstehender Bouillon	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Bouillon	idem
1 : 3000	idem	idem	kleine Flöckchen	grobe Flocken	größere Flocken	idem	Bodensatz mit fast klarer überstehender Bouillon	idem
1 : 6000	idem	Wogen	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen	grobe Flocken	idem
1 : 12 000	idem	trübe	trübe	feinste Flöckchen	Wogen	feinsteflöckchen	feinsteflöckchen	feinsteflöckchen

gestellt. Bakterien sowohl als auch Serum wurden 1 Stunde auf 55° erwärmt und die Serumverdünnung 1:600 gewählt. Die Röhrchen werden dann, um die Agglutination zu beobachten, natürlich bei 37° gehalten, um die Einwirkung der höheren Temperatur auf die nicht vorerwärmten Bakterien zu vermeiden. Man verwendet zu dem Versuche eine nicht 24 Stunden, sondern 12 Stunden bei 37° gewachsene Bouillonkultur.

Tabelle IV.
Serumverdünnung 1:600.

	15 Minuten	30 Minuten	45 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
Typhusbacillen + Serum	allerfeinste Flöckchen	kleine Flöckchen	gröb. Flocken	grobe Flocken mit beginnender Bodensatzbildung	Bodensatzbildung mit trüber überstehender Bouillon
Typhusbac. auf 55° erwärmt + Serum	grobe Flocken	grobe Flocken mit beginnender Bodensatzbildung	Bodensatzbildung mit fast klarer überstehender Bouillon	Bodensatz mit klarer überstehender Bouillon	Bodensatz mit klarer überstehender Flüssigkeit
Typhusbac. + Serum auf 55° erwärmt	allerfeinste Flöckchen	kleine Flöckchen	gröb. Flocken	grobe Flocken mit beginnender Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
Typhusbac. auf 55° erwärmt + Serum auf 55° erwärmt	grobe Flocken	grobe Flocken mit beginnender Bodensatzbildung	Bodensatz mit fast klar überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit klarer überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit klarer überstehender Bouillon

Dieser Tabelle entnimmt man, daß die Erwärmung des Serums keinen Einfluß übt auf die schnellere Agglutination, sondern die Erwärmung der Bakterien; denn überall dort, wo die vorerwärmten Bakterien mit dem erwärmten oder nicht erwärmten Serum zusammengebracht wurden, zeigte sich die schnellere Agglutination. Es wäre vielleicht noch die Möglichkeit vorhanden, daß in der Bouillon ein Hemmnis für die Agglutination läge, das bei 55° ausgeschaltet würde. Dies konnte dadurch ausgeschlossen werden, daß die von der Bouillon abzentrifugierten Bakterien und die davon abgeessene Bouillon separat auf 55° erwärmt wurden und dann das Zusammenwirken der erwärmten Bouillon und nicht erwärmten Bakterien und umgekehrt, wie im vorhergehenden Versuche beobachtet wurde. Auch hier erwies sich nur die Vorerwärmung der Bakterien als entscheidend.

Die Einwirkung aller Serumkonzentrationen auf die vorerwärmten und nicht erwärmten Bakterien zeigt die folgende Tabelle (p. 682).

Es ist also in allen Serumkonzentrationen eine schnellere Agglutination der vorerwärmten Bakterien eingetreten. Während auch bei den nicht erwärmten Bakterien in den stärkeren Konzentrationen Bodensatzbildung zu stande kommt, so zeigt sich besonders hier ein Unterschied gegenüber den vorerwärmten. Während nämlich bei ersteren, wie schon erwähnt, die überstehende Flüssigkeit nach 2 Stunden mehr oder weniger trübe ist, ist sie bei letzteren fast klar, ein Beweis, daß alle Bakterien ausgefällt sind, daß das Agglutinin auf diese Bakterien viel intensiver eingewirkt hat.

Tabelle V.

Normale Bakterien						Vorerwärmte Bakterien					
	15 Minuten	30 Minuten	45 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	15 Minuten	30 Minuten	45 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	
1 : 100	groß. Flocken	grob. Flocken m. beginnender Bodensatzbildung	Bodensatz m. trüber überstehender Bouillon	Bodensatz m. trüber überstehender Bouillon	Bodensatz m. leicht trüber überstehend. Bouillon	grobeflocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz m. fast klarer überstehender Bouillon	Bodensatz m. klarer überstehender Flüssigkeit	Bodensatz m. klarer überstehender Flüssigkeit	
1 : 200	idem	grob. Flocken	grob. Flocken mit beginnender Bodensatzbild.	idem	Bodensatz m. trüber überstehender Bouillon	idem	idem	idem	Bodensatz m. klarer überstehender Bouillon	Bodensatz m. klarer überstehender Bouillon	
1 : 300	kl. Flocken	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	
1 : 600	feinste Flockchen	kl. Flocken	grob. Flocken	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	
1 : 1200	Wogen	feine Flockchen	kl. Flocken	grob. Flocken	beginnende Bodensatzbildung	kl. Flocken	kl. Flocken	grob. Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz m. fast klarer überstehender Bouillon	
1 : 3000	idem	idem	idem	kl. Flocken	kleine Flockchen	Wogen	feine Flockchen	kl. Flocken	grob. Flocken	beginnende Bodensatzbildung	
1 : 6000	trübe	feinste Flockchen	idem	feinste Flockchen	feine Flockchen	trübe	idem	idem	idem	grob. Flocken	
1 : 12000	idem	trübe	trübe	trübe	trübe	idem	trübe	Wogen	Wogen	feinste Flockchen	

Diese schnelle Agglutinierbarkeit kommt jedoch nur dann zu stande, wenn die Temperatur von 55° längere Zeit, $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, eingewirkt hat. Wenn man jedoch bedenkt, daß die starken Serumkonzentrationen die Typhusbacillen bereits nach wenigen Minuten schneller agglutinieren, während die gleichlange Erwärmung der Bakterien auf 50° keinen Einfluß übt auf die Schnelligkeit der nachherigen Agglutination, so ist wohl schwerlich anzunehmen, daß die Erwärmung der Bakterien allein die günstige Beeinflussung der Agglutination bei 55° zufolge hat. Auffallend ist, daß die einstündige Einwirkung eine Temperatur von 55° gerade der gewöhnlichen Inaktivierungsmethode entspricht, die einen so günstigen Einfluß auf die Agglutination ausübt. Was da für Veränderungen in den Bakterien vor sich gehen, ob die agglutinierbare Substanz günstig beeinflusst oder eine hemmende Substanz dadurch vernichtet (inaktiviert) wird, läßt sich nach diesen Versuchen nicht entscheiden. Die schnellere Agglutinierbarkeit der Typhusbacillen bei 55° beruht also wahrscheinlich auf dem Zusammenwirken von agglutinierbarer Substanz und Agglutinin und ist als eine bei höherer Temperatur schneller verlaufende Reaktion anzusehen. Daß es nicht an den Bakterien allein liegen kann, ist, wie wir später sehen werden, auch daraus ersichtlich, daß Choleravibrionen und Staphylokokken bei 55° ebenfalls die raschere Agglutination zeigen, ohne daß es gelingt, durch Vorerwärmung dieser Bakterien auf 55° eine günstige Beeinflussung ihrer agglutinierbaren Substanz zu erzielen.

Es möge hier bemerkt werden, daß bei diesen Untersuchungen unter agglutinierbarer Substanz stets jener Anteil des Bakterienleibes gemeint ist, durch dessen Verbindung mit dem Agglutinin des Serums die sichtbare Agglutination zu stande kommt, die Substanz, die Eisenberg und Volk fällbare Gruppe an der agglutinierbaren Substanz nennen und die Joos als Agglutinogen bezeichnet.

Der Befund bei 65° , wo die bereits eingetretene Agglutination wieder schwand, legte den Gedanken nahe, eine höhere Temperatur auf agglutinierten Bakterien einwirken zu lassen; und da zeigte sich, daß die Flöckchen schwanden, der Bodensatz sich löste, haarzopförmig vom Boden in die Höhe stieg und die Bouillon wieder gleichmäßig trüb wurde. Die Temperatur von 80° ist hierfür die geeignetste, indem bereits nach 3—5 Minuten, je nach der Vollkommenheit der bereits eingetretenen Agglutination, die Entagglutination eintrat und Reagglutination sich nicht wieder einstellte, auch nicht nach Zugabe starker Serumkonzentrationen. Bei niederen Temperaturen von 65° aufwärts muß man selbstverständlich entsprechend länger erhitzen, damit der Wiedereintritt der Agglutination ausbleibt.

Eisenberg und Volk erzielten Desagglutination durch Säuren, Alkalien, Salzlösungen und Erhitzung.

Diese Entagglutination läßt sich auch sehr leicht unter dem Mikroskope beobachten. Man stellt in dem hohlen Objektträger ein Bakterienhäufchen in die Mitte des Gesichtsfeldes und erwärmt mit der kleinsten Flamme des Mikrobrenners, nachdem man den Abbe ausgeschaltet hat, ganz allmählich von unten her. Man merkt nach Sekunden bereits, daß sich des Häufchens eine Unruhe bemächtigt, indem es hin- und herschnellt; hierauf zieht es sich stark zusammen, die Verbindung der Bakterien wird gesprengt und dieselben stieben explosivartig auseinander. Der hängende Tropfen zeigt jetzt nur vereinzelte Bakterien, die vordem

vollständig bewegungslos, einen gewissen Grad ihrer Beweglichkeit, vielleicht eine verstärkte, sogenannte Molekularbewegung wiedererlangt haben.

Worauf die Entagglutination beruht, ob an der Zerstörung der agglutinierbaren Bakteriensubstanz bei dieser Temperatur oder an der Inaktivierung des Serums oder an beiden, mußte sich feststellen lassen, wenn man Bakterien und Serum gesondert erhitzt und dann in den verschiedenen Variationen zusammenbringt. Der Versuch wurde in der Weise angestellt, daß ein Wasserbad auf 80° erhitzt wurde, die Röhrrchen mit den Bakterien und dem Serum getrennt hineingebracht wurden und als Indikator ein Röhrrchen, in dem bereits vollkommene Agglutination eingetreten war. Sobald dieses Röhrrchen gleichmäßig getrübt war, was in dem Versuche nach 5 Minuten eintrat, wurden sämtliche Röhrrchen aus dem Wasserbade genommen und, wie die folgende Tabelle zeigt, vereinigt.

Tabelle VI.

	1:300	1:3000	1:6000	1:12 000
Bakterien auf 80° erhitzt + Serum	trübe	trübe	trübe	trübe
Bakterien + Serum auf 80° erhitzt	kleine Flocken	kleine Flocken	feinste Flöckchen	feinste Flöckchen
Bakterien auf 80° erhitzt + Serum auf 80° erhitzt	trübe	trübe	trübe	trübe
(Bakterien + Serum) auf 80° erhitzt	idem	idem	idem	idem

Die Röhrrchen waren 2 Stunden bei 37°, kamen dann auf 1 Stunde bei 55° ins Wasserbad und wurden noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen. Es änderte sich an den Röhrrchen während dieser Zeit nur, daß die Agglutination vollkommener wurde, die anfangs trüben Röhrrchen blieben trüb, d. h. es trat keine Agglutination ein. Es wird also durch das 5 Minuten lange Einwirken einer Temperatur von 80° die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen so schwer geschädigt, daß sie selbst für die starken Serumkonzentrationen inagglutinabel sind. Das Serum hingegen verträgt diese Temperatur, wird nur geschwächt, und selbst die Verdünnung 1:12000, bei der gerade noch Agglutination eintritt, wird nicht inaktiviert. Sicherlich eine bedeutende Resistenz gegen das Einwirken höherer Temperaturen. Durch längeres Erhitzen auf 80° wird selbstverständlich das Serum unwirksam. Es kommt also die Entagglutination der Typhusbacillen durch die 5 Minuten lange Einwirkung der Temperatur von 80° dadurch zu stande, daß die agglutinierbare Substanz der Bakterien geschädigt resp. vernichtet wird, so daß das noch aktive Agglutinin dadurch, daß sein Angriffspunkt zerstört ist, seiner Funktion verlustig wird.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien¹⁾.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität Pisa.
Direktor: Prof. A. Di Vestea.]

Von Dr. **Gino de' Rossi**, Assistenten und Privatdozenten.

Mit 3 Figuren.

Die zuerst für die beweglichen Bakterien entdeckte und untersuchte Erscheinung der Agglutination schien damals mit der Anwesenheit der Geißeln innig verbunden zu sein. So hatte Malvoz²⁾ seit 1897 beobachtet, daß die mehrmals im Wasser abgespülten Typhusbacillen ihre Beweglichkeit vollkommen verlieren, ohne Geißeln erschieben und nicht mehr agglutiniert werden konnten. Diese Beobachtung bestätigte ein Jahr darauf Dineur³⁾, von welchem den Geißeln die Hauptrolle des Mechanismus der Agglutination zugeschrieben wurde, indem er diese Erscheinung von bestimmten Veränderungen abhängig erklärte, die unter dem Einfluß der agglutinierenden Substanzen mit den Geißeln vor sich gehen würden. „*Sous leur influence, les flagella acquièrent la propriété d'adhérer les uns aux autres en s'entremêlant peu à peu et emprisonnant ainsi dans leur réseau les bacilles auxquels ils sont fixés, et qu'ils ont entraînés à leur suite*“. Als später die Erscheinung nicht nur bei den beweglichen Bakterien, sondern auch bei den unbeweglichen und bei anderen Zellenelementen bewiesen wurde, fiel Dineurs Hypothese und an ihrer Stelle wurden die anderen angenommen, die eine allgemeinere Erklärung dieses Mechanismus darbieten. Die Frage war aber einer weiteren Untersuchung würdig, und das geschah in den letzten Zeiten, wenn auch unter einem verschiedenen Gesichtspunkte. Obgleich es vollkommen klar ist, daß in der einfachen Tatsache des Zusammenhanges und der Verwirrung der Geißeln keine genügende Erklärung dieser Erscheinung zu finden ist, war es wichtig, zu untersuchen, welche Rolle der Bewegungsapparat der beweglichen Mikroorganismen in diesem Phänomen spielt. Man denke nur, wie verschieden die Zellenelemente sich gegenüber der Agglutinierbarkeit verhalten, je nachdem sie beweglich oder unbeweglich sind. Um bei der Bakteriologie zu bleiben, wie merkwürdig ist in dieser Beziehung der Unterschied zwischen Typhusbacillus, *B. coli*, *Vibrio* der Cholera, *Vibrio pyocyaneus*, *Tetanusbacillus* und anderen beweglichen Bakterien, die alle sehr empfindlich gegen das spezifische (natürliche oder experimentelle) Serum sind, auch wenn es sehr verdünnt ist, und den anderen Mikroorganismen, die keiner wirklichen Bewegung fähig sind (Tuberkulose, Diphtheritis, *Meningococcus*, Influenzabacillen u. s. w.), bei welchen die Agglutinationserscheinung ganz und gar fehlt oder nur in sehr schwachen Verdünnungen des aus kranken oder aus zu diesem Zwecke präparierten

1) Mitteilung an die medizinische Akademie zu Pisa. Sitzung am 23. März 1904.

2) Agglutination du *Bacillus typhosus* par des substances chimiques. (*Annales Pasteur*. 1897. No. 6.)

3) *Recherches sur le mécanisme de l'agglutination du bacille typhique*. (*Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique*. 1898.)

Tieren erhaltenen Serums vorhanden ist. Dies Phänomen der Beweglichkeit, als wirkliche Verschiebung der Zelle, nicht als einfache Molekularbewegung betrachtet (die manchmal so lebhaft ist, daß oberflächliche Beobachter in Irrtum verfallen können), ist ohne Zweifel von der Anwesenheit der Geißeln abhängig. Diese Elemente, die in den sehr entwickelten Kulturen Veränderungen erleiden, um nachher zu verschwinden, haben gewöhnlich die gleiche Form, Anordnung und bis auf einen gewissen Grad auch dieselbe Zahl, und trotz ihrer außerordentlichen Feinheit bilden sie bei verschiedenen Mikroorganismen durch ihre Länge und Anzahl einen nicht unbedeutenden Teil der Masse: So ist es der Fall z. B. für den Typhusbacillus, bei welchem das Phänomen der experimentalen Agglutination den höchsten Grad erreicht hat und der Geißelnapparat eine solche Masse bildet, die ebenso groß ist wie der Körper der Bakterie (wenn man auch die vermutlich durch die Färbung verursachte Vergrößerung der Geißeln dazu rechnen will).

An diese sozusagen quantitative knüpft sich dann die andere, nur qualitative und bis jetzt ungelöste Frage, ob nämlich die Geißeln für Protoplasmafortsetzungen der Bakterienzelle oder für einfache Anhänge der Membran anzusehen sind, und vom allgemeinen Gesichtspunkte aus muß man gestehen, daß — der Schwierigkeit wegen, die man bis vor kurzem bei der Färbungsmethode zu überwinden hatte — solche Elemente bis jetzt zu sehr vernachlässigt worden sind, doch wurden sie bei der Beschreibung der verschiedenen Arten, als ein nur unwichtiges Moment in der bakteriologischen Systematik benutzt und kamen nie zur Geltung bei der Untersuchung und Erklärung der Tatsachen, welche die biologischen Phänomene der Bakterien betreffen. Zu diesen interessanten Phänomenen gehört auch die Agglutination. Ist es nicht seltsam, daß diese Erscheinung, die man nicht durch die Anwesenheit der Geißeln erklären konnte, so wenig Interesse erregt, daß man nicht versucht hat, festzustellen, welche Rolle diese Bewegungsorgane darin spielen, wenigstens bei solchen Mikroorganismen, wo sie deutlich bewiesen werden können?

Auf diesem Gebiete gibt es nur wenige und sich widersprechende Untersuchungen. Nicolle und Trenel¹⁾ meinen, daß die Agglutinierbarkeit und das agglutinogene Vermögen zwei parallele, bei jener Bakterienart untrennbare Eigenschaften seien, die in engem Verhältnis zu der Bakterienbeweglichkeit stehen. „Seuls les microbes mobiles sont doués d'une sensibilité véritable à l'action des agglutinines, seuls ils sont nettement agglutinogènes; les microbes dépourvus de mobilité sont peu ou pas agglutinables, peu ou pas agglutinogènes. La mobilité des microbes tenant à la presence de cils à leur surface, il paraît légitime de penser que c'est la tunique ciliée de ces êtres qui joue le rôle capital dans le phénomène de l'agglutination“. Solche Behauptungen und die schließliche Hypothese sind durch zwei Reihen von experimentellen Beobachtungen begründet. 1) Der Typhusbacillus, bei 42° kultiviert, verliert die Beweglichkeit, und sein agglutinogenes und agglutinierendes Vermögen scheint merklich vermindert zu sein. Abgesehen davon, daß bei so digenesischen Kultivationsbedingungen ein Mikroorganismus noch andere Modifikationen außer dem Verlust der Geißeln erleiden soll, so ist noch zu bemerken, daß Lesieur den Resultaten von Nicolle und

1) Recherches sur le phénomène de l'agglutination etc. (Annales de l'Institut Pasteur. 1902. No. 8. p. 562.)

Trenel vollkommen widerspricht, indem er behauptet, daß die Kultur auf 44—50° keine Modifizierung der Agglutinierbarkeit des Eberth'schen Bacillus hervorruft. 2) Außerdem haben Nicolle und Trenel einen typhusähnlichen Bacillus untersucht, der bei 35° kultiviert, unbeweglich ist und, im Ofen bei 18° gehalten, nach verschiedenen Verpflanzungen beweglich geworden sein soll. Wiederholte, durch Impfungen dieser beiden Formen an Kaninchen angestellte Versuche würden beweisen, daß ein durch die bewegliche Form erhaltenes Serum nur die bewegliche Form agglutiniert, während das aus dem unbeweglichen Bacillus erlangte Serum weder für die eine noch für die andere agglutinierend ist. Man merkt aber trotzdem, daß die Verf. gestehen, es sei ihnen unmöglich gewesen, die Geißeln des von ihnen beweglich genannten Mikroorganismus zu färben.

Zu gleicher Zeit mit der Arbeit von Nicolle und Trenel ist auch eine Mitteilung von Defalle¹⁾ erschienen, welcher hierin dieselben Schlüsse zieht und noch weiter geht, indem er dem Geißelapparat sowie der Kapsel einiger Mikroorganismen eine wichtige Rolle bei dem Agglutinationsmechanismus zuschreibt. Auch er gründet seine Meinung auf eine doppelte Reihe von Versuchen:

1) Die experimentelle Einspritzung geißelter und geißelloser Mikrobenarten, unter ungefähr denselben Bedingungen ausgeführt, ergibt eine bedeutende Menge von Agglutinin bei den geißelten Mikroben, während das durch Impfungen mit geißellosen Mikroben erhaltene Serum nur ein schwaches Agglutinationsvermögen hat. Es werden dadurch die Resultate bestätigt, die man schon in Laboratorien und Kliniken bezüglich des Unterschiedes zwischen agglutinierender und agglutinogener Kraft der beweglichen und unbeweglichen Bakterien erhalten hat. 2) Der Verf. aber, der schwachen Seite dieser Untersuchungen bewußt, fügt hinzu, daß „la thèse soutenue serait bien plus solide encore si les expériences s'appuyaient non plus sur des microbes d'espèces différentes, mais sur une seule et même espèce de bacilles, donc on produirait à volonté des modifications de l'enveloppe ciliaire“. Bei einer zweiten Versuchsreihe mit dem Bacillus mycoides zeigte es sich, daß dieser Bacillus in gewöhnlicher Agarkultur bei 37°, mittelst alle 24 Stunden wiederholten Verpflanzungen, beweglich und mit zahlreichen Geißeln versehen ist; die Elemente einer nur von Sporenpfimpfung desselben Mikroorganismus hergestellten Kultur waren weniger bewegungsfähig, hatten wenige und kurze oder gar keine Geißeln. Durch Einspritzung dieser beiden Varietäten eines Mikroorganismus, erreichte der Verf. nicht sehr sichere Resultate, die aber im ganzen mit jenen von Nicolle und Trenel übereinstimmen sollen.

Einer entgegengesetzten Meinung ist Lesieur²⁾, doch sind seine Argumente noch weniger überzeugend. Er beschäftigt sich nur mit dem Typhusbacillus und untersucht, in welchem Verhältnis die primitive und die künstlich verminderte oder aufgehobene Beweglichkeit der Bakterien mit den Veränderungen der Agglutinierbarkeit steht. Er behauptet, daß unter 35 von ihm aus Typhösen oder aus Wasser isolierten

1) Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. (Annales de l'Institut Pasteur. 1902. No. 8. p. 595.)

2) Rapports entre l'agglutinabilité et la mobilité des Bacilles d'Eberth. (Journal de Physiologie et de Pathologie générale. T. V. 1903. No. 3. 15 mai.)

Eberth'schen Bacillen einige wenig oder gar nicht beweglich waren, andere ganz unagglutinierbar, es ist aber kein standhaftes und absolutes Verhältnis zwischen Beweglichkeit und Agglutinierbarkeit zu beweisen. Nichts berichtet uns der Verf. über die Natur des agglutinierenden Serums und über die angewendete Technik, ebensowenig über die Identifizierungsmittel der isolierten Mikroorganismen. Es ist ja kaum möglich, eine Meinung anzuerkennen, die sich auf eine einfache Behauptung stützt, und besonders in diesem Falle, wo es sich um eine so schwierige Untersuchung handelt und wo es so viele Mikroorganismen gibt, welche mit den Eberth'schen Bacillus die wichtigsten Kulturcharaktere gemeinsam haben, während deren morphologische und serumdiagnostische Charaktere absolut verschieden sind, wie ich es in einer bald erscheinenden Arbeit beschreiben werde. Was die künstlichen Modifikationen der Beweglichkeit dieser Bacillen betrifft, teilt der Verf. mit, es sei ihm gelungen, dieselbe zu vergrößern resp. zu vermindern und zwar durch verschiedene Kulturen, die er nacheinander in Porzellanfiltern bereitete; die Filter waren in peptonisiertes Salzwasser enthaltende Röhren eingetaucht. Durch aufeinanderfolgende Verpflanzungen der am schnellsten durch die Filter gehenden Mikroben erreicht er eine größere Beweglichkeit, während jene, die im Innern der Filter länger blieben, weniger beweglich wurden.

Beim Vergleich dieser so erhaltenen Resultate mit den Veränderungen der Agglutinierbarkeit meint der Verf. die Schlußfolgerung annehmen zu dürfen, daß das Verhältnis zwischen Agglutinierbarkeit und Beweglichkeit kein konstantes ist. Das genaueste Maß dieser Beweglichkeit sei außerdem, meint der Verf., durch die Geschwindigkeit nachgewiesen, mit welcher die um die Filter sich befindende Flüssigkeit sich trübt; keinen Wert haben nach seiner Meinung weder die direkte Untersuchung der Mikroorganismen, noch all die anderen Bedingungen, die, von diesem Gesichtspunkt aus, die größte Wichtigkeit haben! Wie ich schon gesagt habe, behauptet Lesieur, daß die Kultur bei 44,5° keinen Einfluß auf Beweglichkeit und Agglutinierbarkeit des Typhusbacillus ausübt, die Kulturen dagegen in Karbolbouillon die eine und die andere vermindert.

Eine sehr verschiedene Ansicht äußern J. Smith und A. L. Reagh¹⁾ in einer neulich erschienenen Arbeit: Die Verff. sind fest überzeugt, daß man es mit zwei Sorten von Agglutinin zu tun hat, deren eine auf den Körper, die andere auf die Geißeln wirken soll. Diese Hypothese stützt sich wie gewöhnlich auf Versuche, die man mit gezeißelten und geißellosen Bakterien angestellt hat; es ist jedoch seltsam, daß die Verff. statt einer einzigen unter beiden Bedingungen kultivierbaren Art nur mehr oder weniger verwandte Arten angewendet haben, wie z. B. ein *B. coli* (beweglich) und ein *B. lactis aërogenes* (unbeweglich), so daß man durch diesen Vergleich keine befriedigende Schlußfolgerung aus den Verhältnissen zwischen agglutinierenden und agglutinogenen Eigenschaften herausfinden kann!

Mit dieser ausführlichen kritischen Rezension der wenigen bis jetzt über die Frage der Verhältnisse zwischen Agglutination und Beweglich-

1) The non identity of agglutinins acting upon the flagella and upon the body of Bacteria. (Journal of Medical Researches, X. 1903. No. 1. p. 89.)

keit der Mikroorganismen existierenden Arbeiten wollte ich einfach zeigen, daß keine der widersprechenden Behauptungen der verschiedenen Autoren einen sicheren experimentellen Grund besitzt; nur auf Grund von Analogie (höhere Agglutinierbarkeit der beweglichen Bakterienarten) nehmen wir die Existenz eines solchen Verhältnisses an.

Die von mir in früheren Mitteilungen beschriebene Färbungsmethode der Geißeln¹⁾ gewährt uns ein verhältnismäßig einfaches und absolut sicheres Beobachtungsmittel dieser Organe. So war ich imstande, mich mit der Lösung dieser Frage durch zwei Untersuchungsreihen zu beschäftigen, welche ich im folgenden mitteilen will:

1) Direkte Untersuchung der durch die Agglutination verursachten Geißelmodifikationen.

2) Untersuchung der Agglutinationserscheinungen infolge der Inokulation an Versuchstieren durch Bacillenkörper, resp. durch Geißeln eines und desselben Mikroorganismus.

Zuerst teile ich die erste Reihe von Untersuchungen mit, da sie sehr einfach und die Resultate klar und zweifellos sind. Kaninchen wurden nach der gewöhnlichen Technik mit progressiv zunehmenden Dosen vom Typhusbacillus, von einer sehr beweglichen Form von *Bact. coli* und *B. subtilis* geimpft, so daß ich Sera erhielt, welche die drei Bacillen nach der Proportion 1:8000, 1:4000, 1:2500 agglutinierten. Bei solchen Verdünnungen war das Phänomen der Agglutination noch sehr deutlich zu erkennen, ebenso bei der makroskopischen Reaktion (Klümpchenbildung und Abklärung der Flüssigkeit) wie auch bei der mikroskopischen Untersuchung (große Anhäufungen von Mikroben, wenige isolierte Bacillen, keine Beweglichkeit). In geeignete Probierröhren habe ich genau gemessene Quantitäten von gut entwickelten, jedoch sehr beweglichen Bouillonkulturen der obenerwähnten Mikroorganismen (18—24 Stunden auf 37°) verteilt und das Serum der betreffenden behandelten Tiere in verschiedenen Mengen hinzugefügt; die entsprechenden Verdünnungen variierten von einem Minimum von 1:50 bis zu einem Verdünnungsmaximum, das, wie ich vorher festgestellt hatte, eine gute, vollkommene Agglutination hervorbrachte. Die Probierröhren wurden mit Wattepfropfen geschlossen, eine halbe Stunde bei 37° und 12 Stunden im Eisschrank gehalten. Nachdem wurde die Zentrifugation ausgeführt, um den flockenförmigen Niederschlag auf dem Boden der Röhren anzusammeln und zu agglomerieren. Die klare Flüssigkeit wurde sorgfältig dekantiert, die Röhrenwände mit einem Wattepfropfen sorgfältig abgewischt. In jedem Rohr wurde dem Niederschlage ein Tropfen sterilisiertes Destillierwasser hinzugefügt und leicht geschüttelt, damit der Niederschlag aufsteigen und aufschwimmen konnte, um nachher die mehr oder weniger intensiv getrübe Flüssigkeit, wo zahlreiche Häufchen zu erkennen waren, auf ein Uhrglas zu bringen. Diese Flüssigkeit behandelte ich genau wie die erste bakterische Emulsion bei der Geißelfärbung, d. h. ich brachte eine Oese voll davon auf ein anderes Uhrglas mit ca. 1 ccm destillierten Wassers zusammen und andere Oesen auf andere dazu bereitete Gläser, die nachher gefärbt werden sollten. Durch die genaue Untersuchung der auf diese Weise

1) Dieses Centralblatt. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 7. p. 572. Rivista d'Igiene e Sanità publica. 1904. p. 86.

erhaltenen Präparate gelangte man bei den drei Mikroorganismen zu einem und demselben Schluß, unabhängig von der Konzentration des angewendeten Serums, d. h. die Geißeln der Mikroorganismen zeigten keine Modifikation, weder der Form, noch der Anordnung, noch der Anzahl. Alle Präparate, auch jene, die aus Röhren mit bedeutender Proportion von Serum bereitet waren und bei welchem kein Zweifel bestehen konnte, daß die Agglutination vollkommen war, zeigten zahlreiche isolierte Bacillen, d. h. Bacillen, die sich während der obenerwähnten Operationen von den Klümpchen losgerissen hatten, wo viele normale und regelmäßig angeordnete Geißeln waren, wie es bei Kontrollpräparaten von normalen, nicht agglutinierten Kulturen zu beobachten war. (Daß die Agglutination vollkommen war, hatte schon die spontane Abklärung der Flüssigkeit, sowie die mikroskopische Untersuchung bewiesen, durch welche die Anwesenheit von sichtbaren Klümpchen und die Abwesenheit von beweglichen Bacillen deutlich dargetan worden war.) Bei diesen

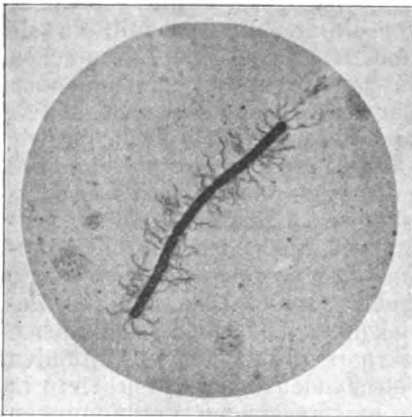


Fig. 1.

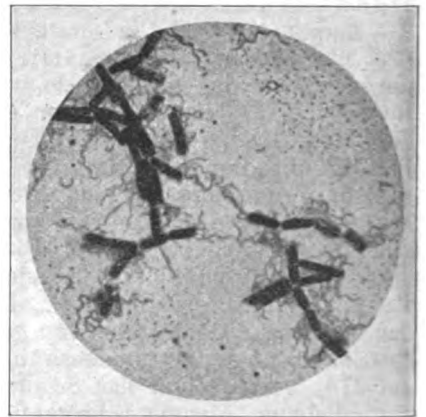


Fig. 2.

Präparaten wurden auch zahlreiche, mehr oder weniger große Bakterienanhäufungen beobachtet, wo nur wenige Mikroorganismen ohne Geißeln vorhanden waren (oder mit Geißeln, die nicht zum Vorschein kommen konnten); die meisten waren ja mit zahlreichen verbundenen und verflochtenen Geißeln versehen. Als Beispiel solcher Erscheinungen füge ich hier das Photogramm (2) einer Kultur von *Bacillus subtilis*, welche durch die Verdünnung 1:200 agglutiniert wurde, hinzu. Der Vergleich mit dem Photogramm (1), welches den nicht agglutinierten *Bacillus* darstellt, zeigt das absolut identische Aussehen der Geißeln. Man kann daher schließen: Die uns zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden können keine sichtbare Modifikation der Struktur, Anordnung und Anzahl der Geißeln beweisen, die dem Phänomen der Agglutination zuzuschreiben sind.

Im Verlaufe einer systematischen Arbeit, die mich veranlaßt hat, das Verhalten einer großen Anzahl von Mikroorganismen gegenüber der Geißelfärbung zu untersuchen, konnte ich eine schon wohlbekannte Tat-

sache konstatieren, nämlich, daß die Geißeln in einigen Mikroorganismen sehr kräftig, in anderen leicht zerreißbar sind; oft trennen sie sich von den Bakterien ab und bleiben isoliert in den Präparaten, manchmal auch in sehr großen Mengen. Dadurch kam ich zu dem Schluß, daß es vielleicht wohl möglich wäre, die Geißeln von der Bakterie abzutrennen und, daß man, um diesen Zweck zu erreichen, es mit einer Art versuchen sollte, bei welcher eine bedeutende Zerbrechlichkeit der Geißeln zusammen mit einer relativen Größe des Körpers verbunden ist, damit der letztere am leichtesten zentrifugiert werden könnte. Dieser doppelten Bedingung entsprach ein zufälligerweise aus Mehl isolierter Mikroorganismus, der, seinem morphologischen und kulturellen Charakter nach, als *Bacillus subtilis* Ehrenberg identifiziert werden konnte; es war aber zu bemerken: 1) bei den Bouillonkulturen fehlt die charakteristische oberflächliche Haut; 2) er scheint eine schädliche Wirkung gegenüber den Versuchstieren zu haben, bei welchen, wenn die Inokulationsdosis eine bestimmte Höhe erreicht hat, der Tod bald hervortritt, durch Intoxikationsphänomene begleitet (eine Agarkultur mit Wasser verdünnt, tötet gewöhnlich Kaninchen).

Was mir überhaupt wichtig scheint, ist, daß es sich um einen großen *Bacillus* handelt, der, in Flüssigkeiten kultiviert, bleibe er allein oder sei er in Ketten zusammengezogen, eine bedeutende Beweglichkeit aufweist, und die frischen Agarkulturen (wie auch die Bouillonkulturen mit agglutinierendem Serum behandelt) zeigten die Anwesenheit unzähliger, schöner Geißeln, die sich um den *Bacillus* oder den Faden regelmäßig angeordnet hatten und leicht abtrennbar waren (Photogramm 1).

Mit diesem Mikroorganismus habe ich zahlreiche Versuche mit der folgenden Technik ausgeführt:

Ein Tropfen einer 12—18 Stunden alten Bouillonkultur, in der zahlreiche bewegliche Bakterien sichtbar waren, wurde auf die Oberfläche des in einer Petri-Schale neulich solidifizierten Agars sorgfältig verbreitet und der Ueberschuß mit einer sterilisierten Pipette aspiriert. Die Platte zeigt nach einem 6—7-stündigen Aufenthalt im Thermostaten reichlichen weißlichen Bakterienbelag, der ziemlich trocken und haftend, doch mit einer Platinöse leicht entfernbar ist, ohne daß ihr scheinbare Spuren vom Nährboden anhaften. Durch die mikroskopische Untersuchung erkennt man, daß dieser Belag aus großen, fadenförmigen Haufen besteht, die nicht ohne Schwierigkeit im Wasser oder in einer physiologischen NaCl-Lösung gelöst werden können. Wenn sie isoliert sind, zeigen, einige wenigstens, leichte Translationsbewegungen. Während dieser Entwicklungsstufe zeigt sich keine Sporenbildung. Die Geißelfärbung dieses sorgfältig verdünnten Materials beweist, daß jeder Faden mit zahlreichen feinen Geißeln versehen ist. Mit einer dünnen Platinöse legte ich den bakterischen Belag in ein mit Glasstöpsel versehenes, 30—40 cm großes Glasröhrchen, das ca. 15 ccm einer sterilisierten physiologischen Kochsalzlösung enthielt. Nachdem man die Abtrennung und die Uebertragung der Kultur mit der größten Sorgfalt ausgeführt hatte, um die Agaroberfläche nicht zu beschädigen, wurde das Gefäß mit dem Glasstöpsel geschlossen und 10 Minuten lang kräftig geschüttelt. Die so erhaltene dichte und milchweiße Emulsion war vollkommen homogen und, im hängenden Tropfen untersucht, zeigte sie überall im Mikroskopfeld eine außerordentliche Menge unbeweglicher und vollkommen isolierter Bacillen. Die Färbung zeigt fast absolut geißellose Bacillen und zahlreiche abgetrennte Geißeln.

(Schluß folgt.)

41*

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Agglutination der Streptokokken durch Serum Scharlachkranker.

[Aus dem Kaiserlichen Institute für experim. Medizin in St. Petersburg.
Vorstand N. Sieber.]

Von Dr. **M. Jogichess.**

Seit **Baginsky** auf die beständige Anwesenheit der Streptokokken im Rachen Scharlachkranker hingewiesen hatte und **Moser** seine glücklichen Versuche über die Behandlung des Scharlachs mit Scharlachserum veröffentlichte, beanspruchte die Beziehung der Streptokokken zum Scharlach ein hervorragendes Interesse.

Die Beobachtungen **Baginskys** und die Erfolge **Mosers** gaben lange noch keine Antwort über die Frage nach der Aetiologie des Scharlachs, und der Anschauung, daß die Streptokokken die Krankheitserreger des Scharlach sind, wurde mit vollem Recht eine Reihe von Tatsachen entgegengehalten, und zwar: Die Unmöglichkeit, Scharlach experimentell zu erzeugen, der cyclische Verlauf der Erkrankung im Gegensatz zu andern Formen der Streptokokkenkrankungen, die Mannigfaltigkeit der Symptomatologie der Streptokokkeninfektion überhaupt.

Auf diese Weise ist man gezwungen, entweder die Spezifität des Scharlachstreptokokken, eines „Scharlachstreptokokken“ als solchen anzuerkennen, oder seine primäre Bedeutung herabsetzend, ihn. bloß als den Erreger sekundärer Infektion anzusprechen.

Ist der aus dem Blute Scharlachkranker gewonnene und zu Immunisierungszwecken verwandte *Streptococcus* der Scharlachstreptococcus?

Die Versuche, Streptokokken nach ihrem mikroskopischen Aussehen und nach dem Verhalten der Kulturen zu klassifizieren, blieben erfolglos. Man wandte sich daher den biologischen Eigenschaften dieser Mikroorganismen zu, um solche differenziell-diagnostische Kennzeichen zu erhalten, und von diesem Standpunkte aus wurde der Agglutination eine hervorragende Bedeutung beigemessen.

Baginsky¹⁾ spricht dem Blutserum Scharlachkranker die Fähigkeit, Streptokokken zu agglutinieren, vollständig ab. **Salge** und **Hasenkopf**²⁾ haben Agglutination bei Verdünnung bis 500 gesehen, als sie mit Streptokokken von Scharlachkranken arbeiteten. Versuche mit Streptokokken von verschiedenen anderen Erkrankungen (mit Ausnahme eines Falles von Diphtherie) fielen negativ aus. **Moser** und **v. Pirquet**³⁾ erhielten Agglutination bei Verdünnung bis 1:8, vorwiegend in schweren Fällen.

Wie ersichtlich, sind die Resultate der verschiedenen Autoren sich einander widersprechend, geben auch ungenügende Aufklärung über die Frage, ob die Agglutination durch das Serum von Scharlachkranken nur den Streptokokken, die von Scharlachkranken stammen, eigen ist, oder

1) **Baginsky** u. **Sommerfeld**, Berlin. klin. Wochenschrift. 1900, sowie Arch. f. Kinderheilk. 1902.

2) **Salge** u. **Hasenkopf**, Jahrbuch f. Kinderheilk. Bd. LVIII.

3) **Moser** u. **v. Pirquet**, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXIV.

ob dieselbe allen Streptokokken überhaupt zukommt. Unter solchen Umständen wäre eine weitere Bearbeitung der Frage nur wünschenswert, und auf Anregung meines hochverehrten Chefs, des Geheimrat C. Rauchfuß, wurden von mir Versuche angestellt, über deren Resultate ich mich verpflichtet fühle, schon jetzt in dieser vorläufigen Mitteilung zu berichten, umsomehr, als über dasselbe Thema in der letzten Zeit einschlägige Beobachtungen von Weawer¹⁾ und Dopter²⁾ mitgeteilt worden sind. Die von mir bisher erhaltenen Resultate sind folgende:

I. Das Blutserum von Scharlachkranken agglutiniert verschiedene Streptokokkenarten in Verdünnung bis 500 und 600.

II. Die Reaktion fehlt im Anfang der Krankheit und tritt deutlich in der 5.—6. Woche hervor.

III. Sowohl Streptokokken von Scharlachkranken als auch Streptokokken von anderen Krankheiten werden in gleicher Weise vom Serum Scharlachkranker agglutiniert; es besteht kein Unterschied weder in der Intensität der Reaktion noch in der Zeit ihres Auftretens bezüglich eines gewissen Stadiums der Krankheit.

IV. Die Agglutinationsfähigkeit Streptokokken gegenüber ist dem Serum der größten Mehrzahl der Scharlachfälle eigen, sowohl den leichten als auch den schweren.

V. Am leichtesten werden diejenigen Arten von Streptokokken agglutiniert, die die Neigung zeigen, spontan zu sedimentieren.

VI. Die makroskopische Methode gibt schärfere und anschaulichere Resultate als die mikroskopische, jedoch aber auch Veranlassung zu Fehldiagnosen bei Versuchen mit kurzkettigen Streptokokken.

VII. Es bestätigt sich die Beobachtung von Moser und v. Pirquet, daß Blutserum, welches in starker Verdünnung gut agglutiniert, diese Eigenschaft öfters nicht besitzt, wenn es schwach verdünnt ist (eine Eigenschaft, die offenbar mit der Fähigkeit des Blutserum, die einzelnen Körner aus ihrem Kettenverband zu lösen, in Zusammenhang steht).

Dies wären die Hauptsachen meiner Mitteilung, die ich schon jetzt hervorheben möchte. Ich behalte mir vor, in Zukunft einige Fragen zu erledigen, und zwar in Bezug auf die Biologie der Streptokokken überhaupt, sowie über die Natur des agglutinierenden Prinzips und auf die Beziehung der Agglutination zu der Virulenz der Streptokokken, zum Alter der Kultur, zu physischen und chemischen Einflüssen etc.

1) Weawer, Journ. f. Inf. Dis. 1904.

2) Dopter, Comptes rendus de Soc. d. Biologie. No. 17. 20. Mai.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. II. Die Agglutinine der Typhusimmunsera und ihre Beziehungen zur agglutinogenen Typhusbacillenleibsubstanz¹⁾.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.)]

Von Dr. **Robert Scheller**, Assistent am Institute.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit (Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904. No. 3) habe ich das Resultat von Versuchen mitgeteilt, die ich über Agglutination und Bindung normaler Agglutinine angestellt hatte.

Wenn ich an dieser Stelle kurz die Resultate jener Arbeit streifen darf, so fanden sich im normalen Pferdeserum — es ist dies eine Tatsache, die bereits von früheren Autoren mitgeteilt wurde — verhältnismäßig große Mengen von Agglutininen für Typhusbacillen; ferner erwies sich das Serum auch für bei 60—62° erhitzte Typhusbacillen agglutinationskräftig. Wenn auch die Agglutinationswerte der lebenden und erhitzten Typhusbacillen mit demselben Normalserum verschieden hoch waren, so konnte ich dennoch durch Absorptionsversuche feststellen, daß wohl dieselben Agglutinine die Agglutination sowohl der lebenden als auch der erhitzten Typhusbacillen besorgen.

Das auf 60—62° erhitzte normale Pferdeserum verlor bis auf geringe Spuren seine Agglutinationskraft; woraus ich vorläufig im Joosschen Sinne — bei den geringen Mengen von Agglutininen im Normalserum ließen sich weder für noch gegen die Joossche Annahme beweisende Schlüsse ziehen — das Vorhandensein einer relativ größeren Menge thermolabilen Agglutinins sowie das spurenweise Vorkommen thermostabilen Agglutinins supponierte. — Die Reste der erhitzten „thermolabilen“ Agglutinine des Normalserums — Normalagglutinoide — erwiesen sich nicht mehr agglutinationsfähig, wohl aber noch bindungsfähig. Normalagglutinoide an Typhusbacillen verankert hemmten die Agglutination dieser Bacillen mit Normalagglutininen sowohl als auch mit Immunagglutininen, woraus einerseits das Erhaltensein der haptophoren Agglutiningruppe in den Normalagglutinoiden sich folgern läßt, andererseits der Schluß gezogen werden konnte, daß die haptophore Gruppe der agglutinablen Bakteriensubstanz für Normal- und Immunagglutinine identisch ist. Schließlich war es mir auch möglich, die bereits von früheren Autoren, zuletzt von Lipschütz, theoretisch gemachte Annahme, daß die Hemmungszonen bei Immunseris auf Agglutinoide zurückzuführen sind, durch Versuche mit analogen Agglutinoïdagglutiningemischen als tatsächlich zu Rechte bestehend zu beweisen, wobei zugleich durch Parallelversuche die Annahme von Lipschütz, welcher die Verschiedenheit der Hemmungszonen bei der Agglutination verschiedener Typhusstämme mit ein und demselben

1) Der I. Teil dieser Arbeit ist im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. No. 3. p. 427 erschienen.

Immunserum auf eine verschiedene Avidität der einzelnen Stämme zu Agglutininen und Agglutinoiden theoretisch zurückführte, experimentell bewiesen werden konnte.

Während die Versuche der eben erwähnten Arbeit vorwiegend zu dem Zwecke angestellt waren, um über Bau und Wesen der Normalagglutinine sowie über die Bindungsverhältnisse derselben zu lebenden und erhitzten Typhusbacillen Auskunft zu geben, seien nunmehr in der vorliegenden Arbeit die Versuche mitgeteilt, die ich mit Immunagglutininen ausführte. Zweck der Versuche war es, einiges über die Konstitution der Immunagglutinine zu erfahren sowie ihren Abbau bei Erhitzung zu studieren, andererseits auch die agglutinable Substanz der Typhusbakterien sowie ihre Abbauprodukte zu untersuchen; ferner lag es im Rahmen dieser Arbeit, das Verhältnis der Immunagglutinine und deren Abbauprodukte zu den Bakterienagglutinogenen resp. den Abbauprodukten der letzteren einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, schließlich wurde noch in weiteren Versuchsreihen der Einfluß geprüft, den die Veränderung der Bakterienleibessubstanz durch Erhitzung auf den Immunisationsvorgang ausübt.

Selbstverständlich mußte bei den Versuchen dieser Arbeit auf bekannte Versuche früherer Autoren Rücksicht genommen werden resp. mußte ich eine ganze Reihe von solchen Versuchen einer genauen Nachprüfung unterziehen. In Betracht kommen hier in erster Linie die Arbeiten Eisenbergs und Volks, Wassermanns sowie Joos'.

Eisenberg und Volk sowie Wassermann haben in sehr exakten Versuchen die Konstitution der Immunagglutinine zu erforschen gesucht, sie haben die bereits von Ehrlich angenommene Gliederung der Agglutinine in eine haptophore und in eine funktionelle Gruppe bewiesen, sie haben sowohl durch Erhitzungs- als auch durch anderweitige Schädigungsversuche festgestellt, daß die haptophore Gruppe und mit ihr die Bindungsfähigkeit der Agglutinine bei weitgehender Läsion der agglutinierenden Substanz erhalten bleibt, während die funktionelle Gruppe und mit ihr die Agglutinationskraft vernichtet wird.

Fernerhin haben genannte Autoren — namentlich waren es Eisenberg und Volk — sehr eingehend die Bindungsweise sowie die Absorptionsgrößen bei Einwirkung von Agglutininen auf die Bakterien zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht.

Im Anschlusse daran hat nun Joos als erster den Einfluß aufgedeckt, den die Veränderung der Bakteriensubstanz auf die Immunisation ausübt, und namentlich auf die Verschiedenheit des Immunisationseffektes als erster hingewiesen, den man je nachdem erzielt, ob man mit lebenden oder mit bei 60° erhitzten Typhusbacillen die Tiere vorbehandelt. Seine Entdeckung gibt uns die Möglichkeit, die Verschiedenheit und die Widersprüche in den Resultaten früherer sonst einwandfreier Forscher zu verstehen. Ich habe bereits in meiner eingangs erwähnten Arbeit (l. c.) die Joossche Arbeit einer eingehenden Kritik unterzogen, und habe es bereits dort versucht, an der Hand der Joosschen Versuchsreihen selbst die theoretischen Schlußfolgerungen, die Joos zieht, als fraglich hinzustellen.

Bei der nun folgenden Mitteilung meiner Versuche wird sich die Gelegenheit finden, öfters auf die Joosschen Versuche zurückzukommen und dieselben einer weiteren sachlichen Erörterung zu unterziehen.

Es sei mir nun zunächst gestattet, Versuche mitzuteilen, die mit dem Serum von Tieren nach immunisatorischer Vorbehandlung derselben mit lebenden Typhusbacillen angestellt wurden.

Der Einfachheit halber möchte ich, um weitschweifige Wiederholungen zu vermeiden, lebende Typhusbacillen mit „T₀“ bezeichnen, Typhusbacillen, die bei 60–62° durch 2 Stunden erhitzt worden waren, mit „T₆₀⁰⁴“, Typhusbacillen, die bei 100° im Dampfe erhitzt worden waren, mit „T₁₀₀⁰⁴“, dementsprechend die analogen Sera mit „Serum T₀“, „Serum T₆₀⁰⁴“ und „Serum T₁₀₀⁰⁴“.

Zunächst wurden T₀-Sera geprüft, die durch Immunisation mit einem ziemlich virulenten Stamme (Stamm Sprung: DL. für 200 g Meer-schweinchen = $\frac{1}{10}$ Oese) gewonnen worden waren.

Es sei hier aus der Reihe der von mir dargestellten Sera das Serum T₀ des Kaninchen I beschrieben. [Kaninchen I war durch 1 Monat allwöchentlich mit steigenden Dosen ($\frac{1}{10}$ Oese, $\frac{1}{5}$ Oese, $\frac{1}{2}$ Oese, 1 Oese) von lebenden Agarkulturen des Stammes Sprung intravenös vorbehandelt worden.]

Dieses Serum wurde zunächst in seiner Agglutinationskraft für lebende Typhusbacillen austitriert. Wie Tabelle I veranschaulicht, wurden lebende Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung 1:16000 agglutiniert¹⁾.

Tabelle I.
Agglutinationskraft des Serums T₀ (Kaninchen I).
für lebende Typhusbacillen.

Verdünnung des Serums	Agglutination lebender Typhus- bacillen
1:20	vollständig
1:100	„
1:200	„
1:500	„
1:1000	„
1:2000	„
1:4000	„
1:8000	fast vollständig
1:16 000	„ 0 „
1:20 000	(= keine Agglutination)

Lasse ich nun dasselbe Serum auf dieselbe Kultur der in Tabelle I verwandten Typhusbacillen einwirken, nur mit dem Unterschiede, daß

Tabelle II.
Serum T₀ (Kaninchen I) in seiner Agglutinations-
kraft für T₆₀⁰⁴.

Verdünnung des Serums	Agglutination von T ₆₀ ⁰⁴
1:20	vollständig
1:100	„
1:200	„
1:500	fast vollständig
1:1000	deutlich
1:2000	Spuren
1:4000	0
1:8000	0
1:16 000	0
1:20 000	0

1) Bei allen Parallelversuchen dieser Arbeit wurde, um quantitativ gleiche Bedingungen zu setzen, nach der in meiner ersten Mitteilung (l. c.) beschriebenen Methode verfahren.

zuvor dieselbe Bakterienaufschwemmung bei 60—62° durch 2 Stunden erhitzt wurde (T_{60}°), so resultiert, wie Tabelle II zeigt, für diese T_{60}° -Bacillen nur eine Agglutination bis zur Verdünnung 1:2000.

Es sei hier noch bemerkt, daß die Agglutination der erhitzten Bakterien nicht so feste Flocken bewirkt, wie sie bei der Agglutination lebender Bakterien auftreten, daß ferner die Flockung etwas verzögert auftritt.

Wurde nun dieses T_0 -Serum bei 60—62° durch 2 Stunden erhitzt und wurde sein nunmehriger Agglutinationswert für lebende Typhusbacillen ausprobiert, so ergab es sich, daß der Agglutinationstiter für lebende Typhusbacillen sich nicht wesentlich geändert hat, wie Tabelle III veranschaulicht.

Tabelle III.
Serum T_0 (Kaninchen I) durch 2 Stunden auf 60—62°
erhitzt + lebende Typhusbacillen.

Verdünnung des Serums	Agglutinationswert
1:20	vollständig
1:100	"
1:200	"
1:500	"
1:1000	"
1:2000	"
1:4000	"
1:8000	fast vollständig
1:16000	unvollkommen, aber deutlich
1:20000	0

Wie wir sehen, sind die Verdünnungszahlen, bei denen noch Agglutination stattfindet, dieselben geblieben. Eine 2-stündige Erhitzung des Serums hat die Wirkung desselben nur wenig herabgesetzt, da erst bei der Verdünnung 1:16000 ein deutlicher Unterschied der agglutinierenden Kraft gegenüber jener des frischen Serums hervortritt. Trotz der Konstanz des Titers (1:16000) kann jedoch diese Abschwächung der Agglutination entweder auf erheblichen Agglutininverlust oder auf erhebliche morphologische Veränderung der ganzen Agglutininsubstanz zurückzuführen sein. Daß letzteres der Fall ist, d. h. daß wir also annehmen können, daß sich die ganze Agglutininmenge durch den thermischen Einfluß in ihrer Struktur verändert hat, scheint auch der Umstand zu bekräftigen, daß in allen Verdünnungen die Flockung etwas verzögert und etwas weniger intensiv im Vergleiche zu den Parallelverdünnungen des unerhitzten Serums erfolgte.

Die Versuche, wie sie sich in den Tabellen I—III widerspiegeln, zeitigten Resultate, wie sie sich bei den analogen Versuchen der Joos'schen Arbeit finden.

Während nun aber Joos bei der Einwirkung seines erhitzten T_0 -Serums auf bei 60—62° erhitzte Typhusbacillen keine Agglutination mehr erhielt, so erzielte unser T_0 -Serum No. I nach seiner Erhitzung auf 60—62° mit bei 60—62° erhitzten Typhusbacillen einen Agglutinationseffekt, der sich nicht wesentlich von jenem unterschied, den unerhitztes T_0 -Serum No. I mit T_{60} -Bacillen aufwies. Siehe Tabelle IV.

Der Agglutinationstiter war derselbe geblieben (1:2000), die Agglutinationskraft des Serums zeigte aber in der stärksten Verdünnung (1:2000) eine geringe Herabsetzung, ähnlich wie wir sie im Versuche No. III bei der stärksten Verdünnung sehen konnten.

Tabelle IV.
Serum T₀ No. I auf 60–62° durch 2 Stunden erhitzt
+ bei 60–62° durch 2 Stunden erhitzte Typhus-
bacillen.

Verdünnung des Serums	Agglutinationswert
1:20	vollständig
1:100	"
1:200	"
1:500	fast vollständig
1:1000	deutlich
1:2000	geringe Spuren
1:4000	0
1:8000	0
1:16 000	0
1:20 000	0

Während also Joos bei seinem T₀-Serum vor und nach der Erhitzung für lebende Typhusbacillen einen konstanten hohen Agglutinations-titer erhielt, für erhitzte Typhusbacillen aber der Agglutinationstiter des unerhitzten Serums ein niedrigerer war, das bei 60–62° erhitzte Serum aber auf erhitzte Bacillen nicht mehr agglutinierend einwirkte, so konnten wir, wie in den Tabellen I–IV ersichtlich ist, bei unserem T₀-Serum No. I sowohl für lebende als auch für erhitzte Typhusbacillen je einen auch nach der Serumerhitzung konstant bleibenden Agglutinationstiter beobachten. Der Agglutinationstiter war für lebende Typhusbacillen ein hoher (1 : 16 000), für bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen ein verhältnismäßig niedrigerer (1 : 2000).

Der Ausfall dieser Versuchsreihe unterscheidet sich von jenem der analogen Joosschen Versuche. Ich möchte aber bemerken, daß unser T₀-Serum von Tieren stammte, welche mit Typhusbacillen immunisiert worden waren, die 5mal so virulent als die von Joos angewandten waren; daß die Art resp. die Virulenz der Kulturen Änderungen in der Struktur der Sera bedingt, zeigt der Umstand, daß Sera, die mit Kulturen von analoger Virulenz, wie sie die Joossche Kultur hatte, gewonnen waren, eine ähnliche Agglutininstruktur aufwiesen wie das Joossche T₀-Serum. Bevor ich jedoch die Versuche mit solchen T₀-Seris wiedergebe, sei es mir zunächst gestattet, über weitere Versuche zu berichten, die mit dem bis jetzt verwandten T₀-Serum No. I angestellt worden waren.

Wie eben beschrieben, agglutinierte unser T₀-Serum lebende Typhusbacillen in viel höheren Verdünnungen als bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen. Es lag somit die Annahme nahe, daß vielleicht hier verschiedene Agglutinine in Wirksamkeit träten, möglicherweise so, daß ein Agglutinin auf die lebenden Typhusbacillen, das zweite auf die bei 60–62° erhitzten Typhusbacillen gewissermaßen spezifisch einwirkt oder daß eventuell die lebenden Typhusbacillen beide disponibele Agglutinine binden, während für die erhitzten Bacillen nur eines derselben in Frage kommt.

Diese Annahme schien um so gerechtfertigter, als doch Joos für sein Serum „T₀“ verschieden wirkende Agglutinine annehmen zu können geglaubt hat.

Hatte unsere hypothetisch gestellte Annahme, daß in dem T₀-Serum No. I für lebende und für bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen gesonderte Agglutinine bestehen, Berechtigung, so mußte dies sich durch nunmehr anzustellende Bindungsversuche erweisen lassen. Für den Fall des

Vorhandenseins eines T_0 -Agglutinins und eines T_{60} -Agglutinins mußte bei Absorption des Serums mit lebenden Typhusbacillen die Agglutinationskraft für bei $60-62^\circ$ erhitze Typhusbacillen vollständig erhalten bleiben, und ebenso durfte umgekehrt Absorption des Serums mit denselben erhitzten Typhusbacillen die Agglutination lebender Typhusbacillen nicht beeinflussen. Waren in dem Serum für die lebenden Typhusbacillen zwei Agglutinine wirksam, für die erhitzten jedoch nur eines von beiden, so mußte Absorption mit lebenden Typhusbacillen die Agglutination der erhitzten Typhusbacillen aufheben, die Absorption mit den erhitzten Typhusbacillen hingegen nur eine Herabsetzung der Agglutination lebender Typhusbacillen bedingen.

In einem Vorversuche wurde zunächst das für lebende und erhitze Bacillen (s. o.) austitrierte Serum mit einer nicht quantitativ gemessenen Menge lebender Typhusbacillen, eine zweite Portion desselben Serums mit bei $60-62^\circ$ erhitzten Typhusbacillen beladen. Das Serum wurde nach mehrstündiger Einwirkung (2 Stunden Brutschrank-, 3 Stunden Zimmertemperatur) in beiden Proben zentrifugiert und so von den Typhusbacillen befreit; die klaren obenstehenden Flüssigkeiten wurden nunmehr zur Agglutination lebender und bei $60-62^\circ$ erhitzter Typhusbacillen verwandt.

In beiden Serumzentrifugaten war sowohl die Agglutinationskraft für lebende als auch für erhitze Typhusbacillen herabgesetzt.

Wenn also das Serum nach Absorption mit T_0 in seiner Agglutinationswirkung für T_{60} und nach Absorption mit T_{60} in seiner Agglutinationskraft für T_0 geschwächt war, so konnte man annehmen, daß zu mindestens der eine Teil, wenn nicht die ganze Menge der in dem Serum vorhandenen Agglutinine, auf lebende sowohl als auch auf bei $60-62^\circ$ erhitze Typhusbacillen einwirkt.

Ob nun nur ein Teil oder die ganze Menge der Agglutinine sowohl auf T_0 als auch auf T_{60} Wirkung hat, entschied folgender Versuch:

Wurde unser Serum mit lebenden Typhusbacillen beschickt und nach Zentrifugierung mit neuen Mengen lebender Typhusbacillen bis zur Erschöpfung der agglutinierenden Substanzen behandelt, so konnte die Agglutination auch für bei $60-62^\circ$ erhitze Typhusbacillen gänzlich aufgehoben werden, umgekehrt konnte eine gleiche fraktionierte Absättigung des Serums mit den bei $60-62^\circ$ erhitzten Typhusbacillen die Wirkung des Serums auf lebende Typhusbacillen aufheben.

Wir sehen also, daß sowohl das für lebende als auch für erhitze Typhusbacillen wirksame Agglutinin des Serums von jeder der Bacillenmodifikationen allein gänzlich gebunden werden kann, mit anderen Worten: Die Agglutination lebender und bei $60-62^\circ$ erhitzter Typhusbacillen mit unserem T_0 -Serum No. I wird durch ein und denselben Agglutininkomplex bedingt.

Das Interessante an dieser Tatsache ist — abgesehen von dem Widerspruche, in welchem sie sich mit den Joosschen Annahmen befindet — daß hier zwar T_0 in anderen Werten als T_{60} agglutiniert werden, daß trotzdem aber dennoch dasselbe Agglutinin in Funktion tritt.

Bei diesem Ausfall der Resultate war nun die Frage gegeben, wie wohl die relative Absorptionsfähigkeit der lebenden und der erhitzten Typhusbacillen sich verhält, d. h. ob genau gleiche Mengen von T_0 und T_{60} gleichviel Agglutinine absorbieren resp. ob vielleicht die erhitzten Typhusbacillen, die ja in geringerer Stärke agglutiniert werden, durch die Erhitzung auch einen Teil ihres Absorptionsvermögens verloren haben.

Zu diesem Zwecke mußten nun die Absorptionsversuche derart angestellt werden, daß man mit quantitativ genau gleich großen Mengen von lebenden und bei 60—62° erhitzten Typhusbacillen bei jedem Absorptionsversuche rechnen konnte.

Zunächst stellte ich mir eine Typhusbacillenaufschwemmung her, indem ich 4 Agarkulturen in 24 ccm Wasser aufschwemmte, die eine Hälfte wurde 2 Stunden bei 60—62° erhitzt, während die andere Hälfte der Aufschwemmung diese Zeit hindurch durch Aufenthalt im Dunkeln und bei 9—10° C vor weiterer Veränderung geschützt wurde. — Von einer Verdünnung 1 : 10 unseres Serums T₀ (Kaninchen I) wurden in 2 Reagenzgläser je 5 ccm pipettiert. Hierzu wurden nun im 1. Glase 5 ccm von der T₀-Aufschwemmung hinzugesetzt, im 2. Glase 5 ccm von der T₆₀-Aufschwemmung. Es war somit die Sicherheit vorhanden, daß in jedem der Proberöhrchen genau gleiche Serumengen und genau gleiche Mengen von Bacillenmaterial von T₀ resp. T₆₀ waren.

Beide Proberöhrchen wurden nun 2 Stunden im Brutschrank bei 37°, hiernach 3 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Nach dieser Zeit waren meistens die Bakterien agglutiniert und die Flocken am Boden sedimentiert, während die klare darüberstehende Flüssigkeit abgegossen und zu der Fortsetzung des Versuches verwandt werden konnte. Hatten sich die Bacillen — dies war in einigen der Versuche der Fall — noch nicht völlig abgesetzt, so konnte ich bereits durch ein geringes Zentrifugieren die Klärung herbeiführen. (Das Serum war durch diesen Versuch auf 1 : 20 verdünnt worden, was zur weiteren Berechnung der Serumwerte berücksichtigt werden mußte.)

Das Serum aus dem Röhrchen, welches mit lebenden Typhusbacillen beschickt worden war, zeigte nach der Absorption nunmehr eine Agglutinationskraft für lebende Typhusbacillen bis zur Verdünnung 1 : 3200, während die andere Probe, die mit den erhitzten Typhusbacillen absorbiert worden war, lebende Typhusbacillen nur noch bis zur Verdünnung 1 : 1600 (und da nur spurenweise) agglutinierte.

Das Resultat des Versuches veranschaulicht Tabelle V.

Tabelle V.

Agglutination lebender Typhusbacillen mit Serum T₀ (Kaninchen I),
a) nach Absorption mit T₀. b) nach Absorption mit T₆₀.

Verdünnung des Serums	Serum nach Absorption mit T ₀	Serum nach Absorption mit T ₆₀	Kontrollserum T ₀ unverändert
1 : 40	vollständig	vollständig	vollständig
1 : 80	"	"	"
1 : 400	"	"	"
1 : 1600	"	Spuren	"
1 : 3200	unvollständig, aber deutlich	0	"
1 : 6400	0	0	"
1 : 12 800	0	0	fast vollständig
1 : 16 000	0	0	" "
1 : 20 000	0	0	0

Es ergibt sich, wie ersichtlich, die merkwürdige Tatsache, daß die bei 60—62° erhitzten Typhusbacillen einerseits schwächer agglutiniert wurden als die lebenden, dem Serum jedoch mehr Agglutinine zu entziehen vermochten wie diese.

Um mich zu überzeugen, ob der Ausfall dieses Versuches nur ein zufälliger, von dem zur Absorption verwandten Typhusstamme abhängiger

war, wurden noch 3 weitere Stämme in erhitztem und unerhitztem Zustande unter ganz gleicher Versuchsanordnung, wie bei Versuch V beschrieben, zur Absorption verwendet. Tabelle VI zeigt den Ausfall dieser Versuche.

Tabelle VI.
Absorption von Agglutinin des Serum T₀ (Kaninchen I) mit je gleichen Mengen T₀ und T₆₀ bei Anwendung dreier verschiedener Typhusstämmе.

		absorbierende Fraktionen	Agglutination lebender Typhusbacillen
Serum nach der Absorption mit:	Typhus G	T ₀	1:6400
		T ₆₀	1:400
	Typhus Mi	T ₀	1:6400
		T ₆₀	1:1600
	Typhus Fr	T ₀	1:3200
		T ₆₀	1:1600

Wir sehen hier auch bei diesen 3 Stämmen die merkwürdige Tatsache, daß die bei 60–62° erhitzte Fraktion mehr Agglutinine absorbierte als die lebenden Typhusbacillen.

Wie ersichtlich war jedoch die Proportion, in welcher die Mengen der Agglutinine, die T₀ einerseits, T₆₀ andererseits absorbierten, zueinander standen, bei den einzelnen Typhusstämmen eine verschiedene. Wenn auch auf eine Erklärung dieser Verschiedenheit zwischen den einzelnen Stämmen erst später näher eingegangen werden soll, so sei hier doch bemerkt, daß uns dieser Ausfall nicht wundern kann, wenn wir bedenken, daß doch die einzelnen Typhusstämmе schon im lebenden Zustande sich sowohl in ihrer Agglutinabilität als auch in ihrer Bindungsfähigkeit untereinander wesentlich unterscheiden.

Es sei nun gestattet, Versuche mitzuteilen, die Auskunft geben sollen über die Agglutinations- und Absorptionsverhältnisse unseres T₀-Serums mit solchen Typhusbacillen, welche 1 Stunde und darüber im Dampftopfe bei 100° erhitzt worden waren.

Die Agglutinationsproben wurden unter denselben Verhältnissen ausgeführt, wie es oben mit T₀ und T₆₀ geschah und außerdem wurden noch als Kontrolle die Parallelproben mit T₀ und T₆₀ nochmals vergleichsweise angestellt. Siehe Tabelle VII.

Tabelle VII.
Agglutination von T₁₀₀ durch Serum T₀ (Kaninchen I).
Kontrollen: Agglutination von T₀ und T₆₀.

zur Agglutination verwandte Typhusbacillen	Serum T ₀ unerhitzt	Serum T ₀ bei 60–62° erhitzt
Kontrolle I: T ₀	1:16000 fast vollständig	1:16000 deutlich, aber unvollkommen
Kontrolle II: T ₆₀	1:2000 spurenweise	1:2000 geringe Spuren
T ₁₀₀	1:20 fast vollständig	} 0 (keine Agglutination)
	1:100 „ „	
	1:500 Spuren „	
	1:1600 0	

Wie aus Tabelle VII ersichtlich, agglutinierte unser T₀-Serum No. I die bei 100° im Dampftopfe erhitzten Typhusbacillen bis 1:500; keine

der Proben zeigte vollständige Agglutination, die Verdünnung 1 : 500 war nur spurenweise agglutiniert. Die Flockung erfolgte sehr langsam. Das auf 60–62° erhitzte Serum agglutinierte T_{100} nicht mehr. Die eben beschriebenen Agglutinationsverhältnisse unseres T_0 -Serums No. I mit T_{100} sind ähnlich den Agglutinationsverhältnissen, wie sie Joos für die Agglutination seines T_0 -Serums mit T_{60} beschrieben hat, indem bei unseren Versuchen T_{100} nur vom erhitzten Serum agglutiniert wurde, während bei 60–62° erhitztes Serum nicht mehr agglutinierend einwirkte.

Stellen wir unser T_0 -Serum No. I dem Joos'schen T_0 -Serum gegenüber. Das Joos'sche T_0 -Serum agglutinierte T_0 hoch und thermokonstant, T_{60} aber nur in unerhitztem Zustande, während das erhitzte Serum die T_{60} nicht mehr zur Agglutination brachte. Joos hat nun für sein T_0 -Serum das Vorhandensein zweier Agglutinine annehmen zu müssen geglaubt. Unser T_0 -Serum nun enthält für T_0 und T_{60} , wie oben näher ausgeführt und begründet, nur ein Agglutinin. Ist es nun nicht möglich, daß bei unserem Serum resp. unseren Typhusbacillen nur eine Verschiebung der Thermolabilität stattgefunden hat, indem die Dualität der Agglutinine, die Joos für die Agglutination von T_0 und T_{60} angenommen hat, bei unserem Serum in dem Sinne besteht, daß für T_0 und T_{60} einerseits ein gemeinschaftliches Agglutinin, für T_{100} andererseits sich vielleicht ein spezielles Agglutinin nachweisen läßt? Es wäre a priori ja sehr verlockend, ein spezielles Agglutinin für T_{100} anzunehmen, wenn wir in Betracht ziehen, daß ja unser Serum für T_0 und T_{60} thermokonstante Wirkung hat, während es für T_{100} thermolabile Eigenschaften aufweist. Dementsprechend müßten sich auch die Agglutinogene in ihrer Thermostabilität und Thermolabilität voneinander unterscheiden.

Ist tatsächlich für die bei 100° erhitzten Typhusbacillen ein spezielles Agglutinin vorhanden, das sich in seiner Hitzebeständigkeit sowie in dem Angriffspunkte seiner Wirkung von dem oben erörterten für T_0 und T_{60} wirksamen Agglutinin unterscheidet, so muß sich dies durch analog den obigen (s. Tabelle VI) Absorptionsversuchen ausgeführte Versuchsreihen erweisen lassen.

Diese Bindungsversuche wurden nun in derselben Weise ausgeführt, wie dies oben für die Bindung mit T_0 und T_{60} des näheren ausgeführt ist; als Kontrolle wurde mit den gleichen Mengen T_0 und T_{60} derselben Typhusbacillenaufschwemmung absorbiert; zudem wurde noch zum Zwecke der Bestimmung des Absorptionsgrades von mit Chloroform abgetöteten Bacillen ein Teil der gleichen Typhusbacillenaufschwemmung $\frac{1}{2}$ Stunde der Einwirkung von Chloroformdämpfen ausgesetzt und danach in gleicher Menge wie die obigen Fraktionen zur Absorption benutzt (TCl). Tabelle VIII zeigt vergleichsweise die Agglutinationswerte unseres T_0 -Serums No. I nach vorheriger Absorption mit gleichen Mengen T_0 , TCl, T_{60} und T_{100} .

Tabelle VIII.

Agglutination lebender Typhusbacillen mit Serum T_0 (Kaninchen I) nach vorheriger Absorption mit a) T_0 , b) TCl, c) T_{60} , d) T_{100} .

Serum T_0 nach vorheriger Absorption mit	Agglutinationstiter für lebende Typhusbacillen
T_0	1 : 3200
TCl	1 : 3200
T_{60}	1 : 1600
T_{100}	1 : 800

Das Resultat unseres Absorptionsversuches kam sehr überraschend; denn erstlich konnte mit diesem Versuche als bewiesen betrachtet werden, daß T_{100} Agglutinin bindet, welches für T_0 Agglutinationswirkung hat, es konnte somit eine Dualität von Agglutininen (im Joosschen Sinne) als ausgeschlossen betrachtet werden; des weiteren war es von großem Interesse, daß T_{100} nicht nur schlechter als T_0 absorbierte, sondern viel mehr Agglutinine zu binden vermochte wie dieses, ja sogar auch mehr Agglutinin absorbierte als T_{60} . Durch die fortschreitende Erhitzung der Typhusbacillen zu T_{60} und T_{100} hat die Typhusbacillensubstanz also Veränderungen erlitten, die zur Folge hatten, daß die Agglutinabilität abnahm, die Bindungsfähigkeit mit Agglutininen hingegen gestiegen war.

Wenn also T_{60} als auch T_{100} Agglutinin zu binden im stande ist, welches T_0 zur Agglutination bringt, ja sogar T_{60} und T_{100} in stärkerem Maße als T_0 selbst es vermag, so können wir darin nicht einen einzigen Anhaltspunkt dafür finden, daß, wie Joos es für sein T_0 -Serum angenommen hat, in unserem Serum etwa verschiedene, je für T_0 , T_{60} und T_{100} spezifisch wirkende Agglutinine präformiert sich vorfinden. Wir können im Gegenteil schon jetzt mehr zu der Annahme hinneigen, daß, wenn sich das Serum bei der Erhitzung in seiner Agglutinationswirkung ändert und zwar verschieden für die einzelnen Typhusbacillenmodifikationen, dies nicht auf der Existenz von verschiedenen vorgebildeten Agglutininen, deren ein Teil thermostabil, der andere thermolabil ist, beruht, sondern daß diese Veränderung in der Wirkung auf einer Modifikation des Agglutinins resp. seiner funktionellen Gruppen bei der Erhitzung beruht. Wir werden in folgendem vielfach diese Annahme durch Experimente gestützt sehen; ich will daher eine ausführlichere Erörterung dieser Verhältnisse einem späteren Teile dieser Arbeit überlassen, hier nur nochmals betonen, daß die Joossche Annahme verschiedener Spezialagglutinine für unser Serum keine Anwendung findet; wie wenig dies für anders gewonnene Sera der Fall ist, wird sich aus den folgenden Versuchen ergeben.

Zum Zwecke der Nachprüfung der Joosschen Versuche sowie der daraus gezogenen Schlußfolgerungen erschien es natürlich von Wichtigkeit, sich nicht mit den Absorptionsversuchen mit einem Serum zu begnügen, das in seinen Agglutinationsverhältnissen nicht dem Joosschen Serum entsprach.

Es war daher die nächste Aufgabe, ein Serum herzustellen, das in den Agglutinationsverhältnissen dem Joosschen Serum analog war, d. h. ein Serum, das erhitzt und unerhitzt T_0 hochwertig agglutinierte, hingegen T_{60} nur in unerhitztem Zustande.

Dies gelang auch durch Immunisation von Kaninchen mit lebenden Kulturen des minder virulenten Stammes Typhus G. Die Sera dieser Kaninchen gaben annähernd analoge Werte, wie sie das Joossche T_0 -Serum aufwies.

Im folgendem sei nun aus der Reihe der sich gleichartig verhaltenden Sera das Serum T_0 des Kaninchens 19 herausgegriffen und in seinen Agglutinations- und Bindungsverhältnissen näher beschrieben.

Die Agglutinationswerte dieses Serums gibt Tabelle IX wieder.

Wie das Joossche Serum, so verhielt sich auch unser Serum 19 für T_{60} thermolabil, d. h. es agglutinierte nur unerhitzt T_{60} , während es, wenn selbst auf $60-62^\circ$ erhitzt, T_{60} nicht mehr zur Agglutination

Tabelle IX.
Agglutinationswerte des T₀-Serums 19.

Serum + T ₀	1 : 6500
Serum + T ₆₀	1 : 400
Serum bei 60–62° erhitzt + T ₀	1 : 3200
Serum bei 60–62° erhitzt + T ₆₀	0

brachte. Vom Joosschen Serum unterschied es sich dadurch, daß bei der Erhitzung des Serums auf 60–62° auch der Agglutinationstiter für lebende Typhusbacillen gesunken war.

Man könnte hier — wie Joos es für sein T₀-Serum getan hat — das Vorhandensein zweier Agglutinine annehmen, eines thermostabilen und eines thermolabilen Agglutinins. Von diesen beiden Agglutininen kämen dann beide für die Agglutination von T₀ in Betracht, weil die Erhitzung des Serums auch die Agglutination von T₀ herabsetzt, während für T₆₀ das thermolabile Agglutinin als wirksam anzunehmen wäre, weil ja Erhitzung des Serums dieses für T₆₀ unwirksam macht. Jedoch ergaben Absättigungsversuche, die ich mit Serum T₀ No. 19 anstellte, Resultate, welche — im Einklange mit meiner bereits früher (l. c.) geknüpften theoretischen Betrachtung — diese Annahme und mithin die Joosschen Resultate nicht bestätigten.

Absorbierte ich Serum 19 mit T₀ und zwar wiederholt mit neuen Mengen, so konnte es erreicht werden, daß die Agglutination sowohl von T₀ als auch von T₆₀ mit dem der Absorption unterworfenen Serum nicht mehr stattfand. Dieser Versuch bewies nur, daß T₆₀ von keinem Agglutinin agglutiniert würde, das nicht auch für T₀ in Wirkung käme; der Versuch sagt aber noch nichts darüber, ob nicht etwa für die lebenden Typhusbacillen zwei Agglutininarten disponibel wären, für die erhitzten jedoch nur eine, und zwar eine von diesen beiden. Eine Umkehrung des Versuches mußte diese Frage beantworten. Wurde unser T₀-Serum No. 19 mit T₆₀ genügend oft absorbiert, so war die Agglutinationskraft sowohl für T₆₀ als auch für T₀ erloschen. Daraus ergibt sich, daß ebenso wie T₀ alles Agglutinin, das auf T₆₀ wirkt, binden kann, es T₆₀ mit dem für T₀ wirksamen Agglutinin vermag. Daraus folgt nun, daß auch für dieses Serum die Joossche Annahme eines für T₀ spezifischen und eines für T₆₀ spezifischen Agglutinins keine Berechtigung hat.

Ziehen wir nun einerseits in Betracht, daß Joos selbst eine Absorption des für T₀ wirksamen Agglutinins durch T₆₀ erzielt hat, weisen wir zudem darauf hin, daß Joos den Parallelabsorptionsversuch mit den gleichen Mengen von T₀, der sicherlich nicht einmal einen so großen Agglutininverlust wie mit T₆₀ zur Folge gehabt hätte, nicht ausgeführt hat, und vergegenwärtigen wir uns andererseits die Resultate der eben mitgeteilten Versuchsreihen, so können wir mit Recht der Ueberzeugung Ausdruck geben, daß die Joossche Annahme vom Vorhandensein seiner Spezialagglutinine nicht zu Recht besteht.

Es sei hier noch bemerkt, daß die Verminderung der Agglutination bei Anwendung von unverdünntem Serum und nur 1 Oese sowohl lebender als auch erhitzter Typhusbacillen meist so gering ist, daß sie übersehen werden kann, weshalb ich es vorzog, meist auch mit verdünntem Serum und reichlicheren Mengen von Typhusbacillen die vergleichenden Absorptionsversuche zu machen.

Es ist wohl bemerkenswert, daß auch mit Serum 19 die Absorptionsversuche mit gleichen Mengen von T₀ und T₆₀ analoge Resultate ergaben, wie dies oben bei Serum I der Fall war. T₆₀ absorbierte mehr

Agglutinin als T_0 . Nach Absorption mit T_0 war der Agglutinationswert des Serums für T_0 1 : 3200, nach Absorption mit gleichen Mengen von T_{60} war der Agglutinationswert für T_0 auf 1 : 1500 herabgesetzt. Vergleiche Tabelle X.

Tabelle X.
Agglutination des T_0 -Serums 19 nach Absorption
der Agglutinine mit gleichen Mengen von
a) T_0 , b) T_{60} .

Serum	Agglutination lebender Typhusbacillen
Kontrolle nicht vorbehandelt	1 : 6500
nach Absorption mit T_0	1 : 3200
nach Absorption mit T_{60}	1 : 1500

Fassen wir nun vorläufig kurz die Tatsachen, die sich in den bisherigen Versuchen ergeben haben, zusammen:

Das Serum von Tieren, die mit T_0 vorbehandelt waren, wies ein hohes Agglutinationsvermögen für T_0 auf, agglutinierte hingegen T_{60} in bedeutend niederen Werten und zeigte für T_{100} noch geringere Agglutinationswerte.

Bei den Tieren, die mit T_0 -Kulturen geringerer Virulenz vorbehandelt worden waren, war nur das unerhitzte Serum für T_{60} wirksam, während das auf 60—62° erhitzte Serum T_{60} nicht mehr agglutinierte. Für T_0 zeigte das Serum auch nach seiner Erhitzung Agglutinationskraft, die aber auch herabgesetzt war.

Wenn auch nicht gänzlich mit den Joosschen Resultaten übereinstimmend, sind dies doch Resultate, die den Joosschen Ergebnissen ziemlich nahe kommen und Joos gebührt entschieden das Verdienst, zum ersten Male auf die verschiedene Wirkungsweise der Sera auf lebende und erhitzte Bakterien, je nach der Art der Immunisation, hingewiesen zu haben.

Die weiteren Resultate sind nun abweichend. Sowohl bei Serum 19, das mit dem Joosschen Serum analoge Werte gab, als auch bei Serum I, das T_0 sowie T_{60} erhitzt und unerhitzt thermostabil agglutinierte (T_0 hochwertig, T_{60} in geringerem Grade), konnte eine Trennung der Agglutinine in T_0 -Agglutinine und T_{60} -Agglutinine keineswegs vorgenommen werden. T_0 und T_{60} sowohl als auch T_{100} absorbierten alle dasselbe Agglutinin, T_{60} und T_{100} absorbierten mehr wie T_0 , während Chloroformeinwirkung die Typhusbacillen in ihrer Bindungsfähigkeit nicht veränderte.

In keinem unserer Versuche ist das Vorhandensein von scharf getrennten Spezialagglutininen für T_0 und T_{60} bestätigt worden.

Eine theoretische Deutung dieser Tatsachen sei für den Schluß dieser Arbeit vorbehalten.

Wir gelangen nun zu einer neuen Reihe von Versuchen. Diese wurden mit Seris von Tieren angestellt, die mit bei 60—62° erhitzten Typhusbacillen gewonnen worden waren.

Zur Verfügung standen mir etliche Pferdesera, darunter zwei Sera, für deren gütige Ueberlassung ich Herrn Prof. R. Paltauf und Herrn Privatdozent Dr. R. Kraus in Wien meinen allerverbindlichsten Dank ausspreche, ferner Ziegensera und Kaninchensera, die durch Immunisation mit T_{60} gewonnen waren.

Zunächst sei ein Pferdeserum in seiner Agglutinationswirkung beschrieben, das sich analog den übrigen T_{60} -Pferdeseris verhielt.

Wie Tabelle XI zeigt und wie auch Joos für sein T_{60} -Serum angibt, wurden T_0 und T_{60} in nahezu gleichen Werten agglutiniert, zudem veränderte Erhitzung des Serums auf $60-62^\circ$ durch 2 Stunden die Agglutinationskraft des Serums gar nicht.

Tabelle XI.
Agglutinationsverhältnisse des T_{60} -Pferdeserums „P“.

Serumbakteriengemisch	Serumverdünnung	Agglutinationsresultat
Unerhitztes Serum + T_0	1 : 100	unvollständig
	1 : 500	vollständig
	1 : 2500	„
	1 : 5000	„
	1 : 10 000	fast vollständig
	1 : 15 000	unvollständig
Unerhitztes Serum + T_{60}	1 : 20 000	0
	1 : 100	vollständig
	1 : 500	„
	1 : 2500	„
	1 : 5000	„
	1 : 10 000	unvollständig
Serum auf $60-62^\circ$ durch 2 Stunden erhitzt + T_0	1 : 15 000	deutlich
	1 : 20 000	0
	1 : 100	vollständig
	1 : 500	„
	1 : 2500	„
	1 : 5000	„
Serum auf $60-62^\circ$ durch 2 Stunden erhitzt + T_{60}	1 : 10 000	fast vollständig
	1 : 15 000	unvollständig
	1 : 20 000	0
	1 : 100	vollständig
	1 : 500	„
	1 : 2500	„
Serum auf $60-62^\circ$ durch 2 Stunden erhitzt + T_{60}	1 : 5000	„
	1 : 10 000	unvollständig
	1 : 15 000	deutlich
	1 : 20 000	0

Betrachten wir nun diese Agglutinationsresultate näher.

Die Agglutinationskraft des Serums war die gleiche für lebende sowie für bei $60-62^\circ$ erhitzte Typhusbacillen; auch in meinen Versuchen erfolgte die Agglutination lebender Typhusbacillen in größeren Flocken, die sich schnell sedimentierten, während die Agglutination der erhitzten Typhusbacillen langsamer und in kleinen staubähnlichen Flocken stattfand, die sich nur langsam am Boden ablagerten. Die Agglutinationskraft des Serums blieb auch nach dessen Erhitzung auf $60-62^\circ$ beinahe vollständig erhalten, nur erfolgte sie langsamer, und mit den bei $60-62^\circ$ erhitzten Bacillen in der letzten Verdünnung (1:15000) minder intensiv. Es sind dies Resultate, die mit den analogen Resultaten der Joos'schen Versuchsreihen übereinstimmen; nur daß Joos, während unser Serum auch nach seiner Erhitzung T_{60} gleichwertig agglutinierte, bei Erhitzung des Serums eine Herabsetzung des Agglutinationswertes für T_{60} fand.

Bevor ich an die Mitteilung meiner analogen Versuche mit Ziegen- und Kaninchenseris sowie der Bindungsversuche dieser Reihe gehe,

möchte ich hier einen Umstand erörtern, den ich bereits in meiner letzten Arbeit besprochen habe.

Gehen wir zu diesem Zwecke wiederum von unserer Tabelle XI aus.

Es fällt uns in die Augen, daß in der Reihe: „Unerhitztes Pferdeserum + lebende Typhusbacillen“ bei einer Serumverdünnung von 1:100 nur unvollständige Agglutination stattfindet, während in den stärkeren Verdünnungen 1:500, 1:2500 etc. die Agglutination vollständig ist.

Eisenberg und Volk, Wassermann, R. Kraus, Paltauf, Lipschütz u. A. führen diese in den stärkeren Konzentrationen auftretenden Agglutinationshemmungen auf den Gehalt der Sera an Agglutinoiden, d. h. zwar noch bindungsfähige aber nicht mehr agglutinierende Agglutininreste zurück. Ich meinerseits konnte mich der Auffassung genannter Autoren anschließen und zwar auf Grund von Experimenten, die ich bereits in der erwähnten, kürzlich erschienenen Arbeit zum Teile mitgeteilt habe.

Konnten Eisenberg und Volk, Wassermann u. A. nachweisen, daß die Bindung von Agglutinoiden, die durch Alteration der Agglutinine mit Säuren entstanden waren, Bakterien derartig beeinflussen kann, daß sie von Agglutininen schlecht oder gar nicht mehr agglutiniert werden, so konnte ich einerseits die Richtigkeit dieser Versuche bestätigen, andererseits durch Bindungsversuche mit genuinen sowie mit künstlich durch Erhitzen gewonnenen Agglutinoiden des Normalserums die beladenen Bakterien derart beeinflussen, daß ihre Agglutination mit Immunagglutininen namentlich in den starken Konzentrationen eine Hemmung erfuhr, die gänzlich analog derjenigen Hemmung verläuft, die wir gelegentlich bei alten sowie auch bei frischen Immunseris zu beobachten im stande sind.

Wir sehen ferner in Tabelle XI, daß die Hemmung in der Konzentration 1:100 verschwunden war, d. h., daß die Agglutination, die unvollständig war, vollständig wurde, wenn wir das Serum bei 60—62° durch 2 Stunden erhitzten, ein Vorgang, der hier die Agglutination in den übrigen höheren Verdünnungen nicht beeinflusste. Ebenso gelang es mir wiederholt bei anderen Seris durch vorsichtiges Erhitzen die vorhandene Trennungszone in ihrer Breite herabzusetzen, ohne die Reaktionsbreite des Serums sonst zu beeinflussen. Wir können uns diesen Umstand wohl am besten erklären, indem wir annehmen, daß durch die Erhitzung des Serums die bis jetzt noch bindungsfähigen, aber nicht mehr agglutinierenden Agglutinoide in dem Maße weiter abgebaut wurden, daß sie nunmehr auch ihre Bindungsfähigkeit und mithin ihren hemmenden Einfluß verloren.

Des weiteren seien die bereits (l. c.) mitgeteilten Versuche hier erwähnt, in welchen es gelang, durch Ausfällung mit minimalen Mengen von Typhusbacillen das Serum so zu beeinflussen, daß dieses zwar in seiner Reaktionsbreite, d. h. in seinem Agglutinationstiter, nicht beeinflusst wurde, daß jedoch die Hemmungszone beeinträchtigt resp. aufgehoben war. Hier haben wahrscheinlich die minimalen Mengen von Typhusbacillen hauptsächlich die Agglutinoide absorbiert, ohne eine wesentliche Absorption der Agglutinine zu bewirken.

Wurden diese Versuche mit verschiedenen Typhusstämmen ausgeführt, so war in dem Ausfall eine oft weitgehende Verschiedenheit zu bemerken. Einige Typhusstämmen wirkten, wie oben geschildert, unter Verminderung der Breite der Hemmungszone, andere Typhus-

stämme hingegen beeinflussten durch Absorption die Hemmungszone nicht oder nur um ein geringes.

Wie ist dies nun zu erklären? Wie Lipschütz mitteilt und wie ich mich im Verlaufe meiner Untersuchungen wiederholt überzeugen konnte, ist die Breite der Hemmungszone, die wir bei Anwendung ein und desselben Immunserums beobachten, oft eine verschiedene, wenn wir das Serum zur Agglutination verschiedener Stämme heranziehen, d. h. bei einigen Stämmen war, z. B. bei dem Serum des Versuches XI, die Hemmungszone bis zur Verdünnung 1:100, wie oben mitgeteilt, nachweisbar, bei anderen Stämmen war die Hemmungszone breiter, d. h. die Hemmung ging in höhere Verdünnungswerte hinauf, bei wiederum anderen Stämmen war die Breite eine nur geringe, d. h. die Hemmung zeigte sich nur in den allerstärksten Konzentrationen.

Dieses Phänomen, daß bei Anwendung verschiedener Typhusstämmen zur Agglutination mit ein und demselben Typhusimmunserum die Hemmungszone verschieden breit sein kann, glaubt Lipschütz auf Grund theoretischer Erwägungen auf die verschiedene Proportion des Aviditätsgrades der einzelnen Typhusstämmen mit den Agglutininen zu jenem, der der Bindung mit den Agglutinoiden zu Grunde liegt, zurückführen zu dürfen.

Die Richtigkeit dieser theoretischen Annahmen konnte ich, wie bereits (l. c.) mitgeteilt, experimentell bestätigen, indem ich bei Agglutinationsversuchen mit ein und demselben künstlich hergestellten Agglutinoideagglutinatingemisch bei Heranziehung verschiedener Typhusstämmen ähnliche Schwankungen in der Breite und in der Intensität der Hemmung hervorrufen konnte.

Weiter spricht für die Annahme, daß Agglutinoide die Ursache dieser Hemmungszonen sind, der Umstand, daß in der größten Mehrzahl der Fälle, wenn auch gelegentlich bei frischen Seris diese Hemmung zu beobachten ist, diese Hemmungszone doch erst bei einem gewissen Alter des Serums auftritt, oder sich auch mit zunehmendem Alter verbreitert. Dieser Umstand läßt mit ziemlicher Sicherheit die Annahme ausschließen, daß etwa präformierte hemmende Substanzen, z. B. Antiagglutinine, diese Hemmungszone bewirken, denn in diesem Falle müßte ja die Hemmungszone von Anfang an schon die größte Breite haben und könnte dann bei zunehmendem Alter des Serums, wenn sie schon nicht konstant bleibt, höchstens durch Abbau dieser Substanzen an Breite und Intensität abnehmen.

Die oben erwähnte Tatsache, daß es mit einigen Stämmen durch Absorption minimaler Bacillenmengen gelang, die Hemmungszone zu beseitigen oder herabzusetzen, während andere Stämme dieses Resultat nicht gaben, können wir nunmehr als erklärt betrachten, wenn wir wissen, daß eben der Aviditätsgrad zu den Agglutininen und jener zu den Agglutinoiden sowohl absolut, als auch in dem Verhältnis der beiden Aviditätsgrade zueinander, ein schwankender ist. Und in den Versuchen ward auch der Beweis dadurch erbracht, daß gerade jene Stämme, die eine nur geringe Hemmungszone aufweisen, bei der Absorption die Hemmungszone für andere Stämme nur wenig zu beeinflussen im stande waren.

Aehnlich ist der Mangel der Hemmung bei einer Verdünnung 1:100 bei der Agglutination von T_{60} zu erklären, wie uns in Tabelle XI auffällt, da ja hier wohl durch Erhitzung der Bakteriensubstanz die Avidität zu den Agglutinoiden im Verhältnisse zu jener für die Agglutinine

herabgesetzt worden sein kann. Vielleicht ist diese Tatsache auch erklärlich, wenn wir in Betracht ziehen, daß T_{60} mehr Agglutinine zu binden vermag als T_0 , und daß daher die nur in beschränktem Maße vorhandenen Agglutinoide vielleicht nicht so zur Wirkung gelangen können wie bei T_0 .

Nach diesen, das Wesen und die Rolle der Agglutinoide einigermaßen beleuchtenden Erörterungen, sei es mir nunmehr gestattet, zu den Versuchen zurückzukehren, die mit den Agglutininen der T_{60} -Sera angestellt worden waren.

Nachdem bereits oben die Agglutinationsverhältnisse eines T_{60} -Pferdeserums ihre Darstellung erfahren haben, seien nunmehr die analogen Versuche mit dem Serum einer Ziege geschildert, die mit bei $60-62^\circ$ durch 2 Stunden erhitzten Typhusbacillen sehr lange vorbehandelt worden war.

Die Resultate der Agglutinationsreihen zeigt Tabelle XII.

Tabelle XII.
Unerhitztes und bei $60-62^\circ$ erhitztes T_{60} -Ziegen Serum in seiner Agglutinationswirkung für T_0 und T_{60} .

T_{60} -Ziegen Serum	Agglutination von T_0	Agglutination von T_{60}
unerhitztes Serum	1:10 000 spurenweise	1:5000 deutlich
bei $60-62^\circ$ erhitztes Serum	1:10 000 „	1:5000 spurenweise

Wir ersehen aus dieser Tabelle, daß unser T_{60} -Ziegen Serum sowohl vor seiner Erhitzung wie nach seiner Erhitzung die gleichen Agglutinationswerte aufwies, daß jedoch die Agglutination von T_{60} bei Verwendung erhitzten und unerhitzten Serums geringere Werte ergab als jene von T_0 . Ueberdies zeigte unser Ziegen Serum keine Hemmungzone in den starken Konzentrationen.

Nunmehr seien die Versuchsreihen geschildert, die mit unerhitztem und erhitztem Kaninchen Serum vorgenommen wurden. Das Serum, dessen Werte Tabelle XIII mitteilt, stammte von einem Kaninchen, das mit einer einmaligen intravenösen Injektion von T_{60} vorbehandelt worden war.

Tabelle XIII.
Agglutinationswerte eines T_{60} -Kaninchen Serums vor und nach seiner Erhitzung auf $60-62^\circ$ für T_0 und T_{60} .

T_{60} -Kaninchen Serum	Agglutination von T_0	Agglutination von T_{60}
unerhitztes Serum	1:6000 deutlich	1:6000 deutlich
bei $60-62^\circ$ erhitztes Serum	1:6000 spurenweise	1:6000 spurenweise

Wie ersichtlich, agglutinierte das Serum T_0 und T_{60} in gleichen Werten, ebenso waren nach Erhitzung des Serums auf $60-62^\circ$ die Werte für T_0 und T_{60} nicht wesentlich verändert (1:6000).

Erwähnt sei hier, daß auch die Sera anderer T_{60} -Kaninchen, wenn sie auch nach intensiverer Immunisation höhere Werte gaben, dennoch für T_0 und T_{60} gleiche oder annähernd gleiche Agglutinationskraft ergaben, und daß sich diese auch nach bis 6 Stunden anhaltender Erhitzung des Serums auf $60-62^\circ$ nicht wesentlich veränderte.

Die Flockung der erhitzten Typhusbacillen war bei allen T_{60} -Seris eine nicht so feste und grobe wie die der nicht erhitzten Typhusbacillen.

Wie wir sehen, stimmen im wesentlichen die Agglutinationsergebnisse dieser Versuchsreihe mit den Joosschen Angaben überein, nur daß Joos eine Abschwächung der Agglutinationskraft des Serums für T_{60} nach Erhitzung des Serums auf $60-62^{\circ}$ fand, was ich in meinen Versuchen nicht bestätigen konnte.

Jedenfalls sehen wir die prinzipielle Verschiedenheit der T_0 -Sera und der T_{60} -Sera, wie sie Joos als erster gefunden hat, hier bestätigt.

Nach Feststellung der Agglutinationsverhältnisse unserer T_{60} -Sera war es nunmehr erforderlich, die Absorptionsverhältnisse von T_0 und T_{60} bei Anwendung dieser T_{60} -Sera zu studieren.

Konnte ich in den oben mitgeteilten Versuchen mit T_0 -Seris, bei der Absorption mit T_0 , T_{60} und T_{100} Absorptionsgrößen finden, die im umgekehrten Verhältnisse zu der Agglutinabilität dieser Typhusfraktionen standen, so lag die Vermutung nahe, daß dort eventuell die vermehrte Bindungsfähigkeit, resp. die erhöhte Agglutininbedürftigkeit die Ursache für die geringere Agglutinabilität gewesen sein konnte, d. h. daß T_{60} und T_{100} weit agglutininbedürftiger als T_0 , wenn demselben Serum ausgesetzt, schlechter agglutiniert werden müssen als T_0 .

Bewahrheitet sich diese Vermutung, so müßte bei unseren T_{60} -Seris, von welchen T_0 und T_{60} in gleichen Werten agglutiniert wurden, der Absorptionskoeffizient von T_0 und T_{60} derselbe sein.

Dies war aber bei Absorptionsversuchen, die mit T_{60} -Serum einerseits und gleichen Mengen von T_0 und T_{60} andererseits vorgenommen wurden, durchaus nicht der Fall.

Tabelle XIV.

Agglutinationskraft des T_{60} -Serums K. 25 für T_0 und T_{60} .
a) Kontrolle vor der Absorption, b) nach der Absorption mit T_0 ,
c) nach der Absorption mit T_{60} .

T_{60} -Serum K. 25	Serumverdünnung	Agglutination von T_0	Agglutination von T_{60}
Kontrolle: Serum vor der Absorption	1:200	vollständig	
	1:800	"	vollständig
	1:1600	"	"
	1:3200	"	"
	1:6400	"	"
	1:12800	"	"
	1:25600	fast vollständig	unvollkommen
	1:32000	0	0
Serum nach Absorption mit T_0	1:200	vollständig	vollständig
	1:800	"	"
	1:1600	"	unvollständig
	1:3200	deutlich	Spuren
	1:6400	0	0
	1:12800	0	0
	1:25600	0	0
	1:32000	0	0
Serum nach Absorption mit T_{60}	1:200	vollständig	vollständig
	1:800	deutlich	deutlich
	1:1600	0	0
	1:3200	0	0
	1:6400	0	0
	1:12800	0	0
	1:25600	0	0
	1:32000	0	0

Wie Tabelle XIV zeigt, absorbierte wiederum die Fraktion T_{60} mehr Agglutinine als die in gleicher Menge zur Absorption verwandte Fraktion T_0 .

Wir sehen, daß die Differenz in der Agglutininabsorption seitens T_0 und T_{60} in diesem Versuche eine ziemlich bedeutende war. Doch möchte ich bemerken, daß bei Anwendung verschiedener Typhusbacillensämme diese Differenz eine verschiedene war; etliche Stämme zeigten eine bedeutend größere Differenz; andere Stämme eine geringere Differenz; ja bei der Absorption mit einigen der angewandten Stämme war die Differenz nur so gering, daß das mit T_0 absorbierte Serum 1:6400 fast vollständig, das mit T_{60} absorbierte Serum 1:6400 spurenweise lebende Bacillen agglutinierte. Doch war in allen Absorptionsreihen ein Unterschied in den Absorptionsgrößen stets in dem Sinne wahrzunehmen, daß T_{60} mehr Agglutinin absorbierte als T_0 .

Hiermit fällt auch die früher von mir hypothetisch gestellte Annahme, daß die schwächere Agglutinabilität und die größere Bindungsfähigkeit von T_{60} und T_{100} bei Anwendung von T_0 -Serum in ursächlichem Zusammenhange stände; denn die daraus abzuleitende Folgerung, daß dann bei unserem T_{60} -Serum bei vorhandener gleicher Agglutinabilität der T_0 - und T_{60} -Fraktionen von jeder Fraktion gleichviel Agglutinine absorbiert werden müßten, trifft nach den Resultaten der eben beschriebenen Versuchsreihen nicht zu.

Hierdurch dürfte es auch sehr in Frage gestellt sein, ob bei der verschiedenen Agglutinabilität verschiedener Typhusstämmen durch ein und dasselbe Immunsrum überhaupt das Absorptionsvermögen der einzelnen Typhusstämmen, wie behauptet wurde, irgendwelche ursächliche Rolle spielt, und es könnten vielleicht demzufolge die widersprechenden Resultate verschiedener Autoren, von denen die einen bei größerer Agglutinabilität größeres Absorptionsvermögen, die anderen hingegen ein geringeres Absorptionsvermögen fanden, vielleicht nebeneinander zu Recht bestehen.

Tabelle XV zeigt uns die Agglutinationsverhältnisse eines Serums, das nach Vorbehandlung eines Kaninchens mit durch 20 Minuten bei 100° gekochten Typhusbacillen gewonnen wurde.

Tabelle XV.

Agglutinationswerte eines T_{100} -Serums für T_0 , T_{60} und T_{100} (letztere T_{100} sind 2 Stunden im Dampfe vorbehandelt).

Serum	Serum- verdünnung	Agglutination von T_0	Agglutination von T_{60}	Agglutination von T_{100}
unverändertes Serum	1:20	vollständig	vollständig	0
	1:100	"	spurenweise	0
	1:500	"	0	0
	1:1000	"	0	0
	1:2000	"	0	0
	1:4000	deutlich	0	0
	1:8000	spurenweise	0	0
	1:16 000	0	0	0
bei $60-62^\circ$ er- hitztes Serum	1:20	vollständig	0	0
	1:100	"	0	0
	1:500	"	0	0
	1:1000	"	0	0
	1:2000	"	0	0
	1:4000	deutlich	0	0
	1:8000	minimale Spuren	0	0
	1:16 000	0	0	0

Wir sehen hier eine beinahe thermokonstante Agglutination in hohen Werten für T_0 (erhitztes Serum wirkt für T_0 beinahe so wie unerhitztes), niedere Agglutinationswerte für T_{60} -Bakterien, welche nach Erhitzung des Serums nicht mehr agglutiniert werden, gar keine Agglutinationskraft für T_{100} .

Wie Absorptionsversuche, die in gleicher Weise wie die verschiedenen oben ausführlich mitgeteilten angestellt worden waren, zeigten, wurden die Agglutinine dieses Serums in annähernd gleichen Mengen von T_0 und T_{60} absorbiert, in viel stärkerer Avidität aber von T_{100} , die doch selbst nicht agglutiniert wurden.

Nach diesen Versuchen, die uns ein verschiedenes Verhalten der Agglutinabilität und der Bindungsfähigkeit der einzelnen Typhusbacillenvarietäten zeigten, war es für mich von Interesse, die Immunisierungswerte von Seris festzustellen, die nach Vorbehandlung von Tieren und je gleichgroßen Mengen T_0 , T_{Cl} , T_{60} und T_{100} vorbehandelt worden waren.

Zu diesem Versuche wurden mehrere Kulturen ein und desselben Typhusstammes mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zwar in dem Verhältnisse, daß eine Kultur auf 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung kam; von dieser gut gemischten Aufschwemmung wurde nun der eine Teil lebend im Eisschrank durch Kälte und Dunkelheit vor Veränderung während der Erhitzungszeit der anderen Fraktionen geschützt, ein anderer Teil durch Chloroformdämpfe 1 Stunde lang abgetötet, eine dritte Fraktion 2 Stunden zwischen 60° und 62° erhitzt, eine vierte Fraktion $1\frac{1}{2}$ Stunden im Dampfe bei 100° belassen.

Von diesen Fraktionen wurde nun 1 ccm je einem Tiere injiziert, und zwar wurden je 4 gleichschwere, derselben Zucht entstammende Kaninchen ausgewählt.

Wie Tabelle XVI zeigt, waren die Ergebnisse so, daß T_{60} den besten Immunisationseffekt hatten, während T_0 , T_{Cl} und T_{100} sich annähernd gleich verhielten; bemerkt sei, daß das Serum der T_{100} Tiere, wenn die Titer auf denen von T_0 und T_{Cl} gleich waren, dennoch in der stärksten Verdünnung bedeutend schwächer reagierte.

Wie aus der Arbeit von R. Paltauf hervorgeht, konnten auch R. Kraus und Joachim in noch nicht veröffentlichten Versuchen bei Immunisation mit bei $60-62^\circ$ erhitzter Agglutinogensubstanz die besten Immunisationswerte erzielen.

Tabelle XVI.
Agglutinationswert von Kaninchenseris, bei Immunisation mit gleichen Mengen von T_0 , T_{Cl} , T_{60} und T_{100} .

Kaninchen	Gewicht	Injizierte Substanz	Agglutinations-titer für T_0
K. 30	2000 g	$\frac{1}{40}$ Kultur T_0	2560
K. 31	2000 g	$\frac{1}{40}$ " T_{Cl}	2560
K. 32	2000 g	$\frac{1}{40}$ " T_{60}	5120
K. 33	2000 g	$\frac{1}{40}$ " T_{100}	2560
K. 34	1500 g	$\frac{1}{40}$ " T_0	2560
K. 35	1500 g	$\frac{1}{40}$ " T_{Cl}	2560
K. 36	1500 g	$\frac{1}{40}$ " T_{60}	5120
K. 37	1600 g	$\frac{1}{40}$ " T_{100}	2560

Es sei nunmehr gestattet, die mitgeteilten Versuche im Zusammenhange zu besprechen

Joos berichtete in seiner Arbeit (l. c.) — wie ich bereits kürzlich (l. c.) ausführlich erörtert habe — über die interessante, bisher nicht bekannte Tatsache, daß sich die Agglutininstruktur der Sera gänzlich verschieden erweist, je nachdem man mit lebenden oder erhitzten Typhusbacillen immunisiert.

Sera, die nach Vorbehandlung mit lebenden Typhusbacillen gewonnen wurden, agglutinierten, wie Joos mitteilt, erhitzt und unerhitzt lebende Typhusbacillen hochwertig, bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen in niederen Agglutinationswerten, und auch dies nur, wenn das Serum keiner Erhitzung ausgesetzt wurde; bei 60–62° erhitztes Serum agglutinierte die bei 60–62° erhitzten Typhusbacillen nicht mehr.

Ein ganz anderes Bild ergaben die Agglutinationsverhältnisse der Sera solcher Tiere, die mit bei 60–62° erhitzten Typhusbacillen vorbehandelt worden waren: Lebende und erhitzte Typhusbacillen wurden in gleichen hohen Werten zur Agglutination gebracht; Erhitzung dieses T_{60} -Serums wirkte auf dieses so ein, daß nunmehr die Agglutination der erhitzten Bacillen zwar noch fortbestand, aber der Titer hierfür erniedrigt war, während die lebenden Bacillen nach wie vor gleich hoch agglutiniert wurden.

Joos schloß aus Absorptionsversuchen, die nach seiner Meinung so ausfielen, daß erhitzte Typhusbacillen das thermostabile, die lebenden Bacillen agglutinierende Agglutinin nicht absorbierten, auf das Vorhandensein zweier Agglutinine in seinem T_0 -Serum: 1) eines thermostabilen Agglutinins (α -Agglutinin), das für das thermostabile Agglutinogen (α -Agglutinogen) der lebenden Typhusbacillen gewissermaßen spezifisch ist, 2) eines thermolabilen Agglutinins, das nur in dem unerhitzten Serum wirksam ist (β -Agglutinin) und das auf das thermostabile β -Agglutinogen der erhitzten Typhusbacillen eingestellt ist. Daß Erhitzung des Serums keine Verminderung der Agglutinationswirkung für die lebenden erzielt, obzwar ja das thermolabile Agglutinin doch auch an den lebenden Typhusbacillen angreifen muß, da diese das thermostabile Agglutinogen ebenfalls enthalten müssen, sucht Joos an der Hand von Versuchen damit zu erklären, daß sich die Wirkung beider Agglutinine nicht summieren.

Für sein T_{60} -Serum nimmt Joos das Vorhandensein des oben für T_{60} als spezifisch beschriebenen β -Agglutinins an, das, weil thermolabil, bei der Erhitzung des Serums die Verminderung der Agglutination für T_{60} hervorrufen soll und eines zweiten „neuen Agglutinins“, das erhitzt und unerhitzte Bacillen agglutiniert und thermostabil sein soll.

Diesen Joosschen Befunden und den theoretischen Deduktionen, die aus den Befunden gezogen sind, möchte ich nun meine Resultate gegenüberstellen:

Bestätigen konnte ich den meiner Meinung nach gewichtigsten Befund der Joosschen Arbeit, daß Verschiedenheit des Immunisierungsverfahrens, d. h. Immunisierung mit lebenden Typhusbacillen einerseits, mit bei 60–62° erhitzten Typhusbacillen andererseits, eine bedeutende Verschiedenheit in der Agglutininstruktur der Sera hervorruft, indem sich die Agglutinationswirkungen der Sera für lebende und erhitzte Typhusbacillen sowie die Einflüsse der Erhitzung der Sera auf die Agglutination deutlich different erweisen.

Die untersuchten T_0 -Sera zeigten einen hohen Agglutinationswert für lebende Typhusbacillen, einen geringeren Agglutinationswert für er-

hitzte Typhusbacillen. Die eine Reihe der T_0 -Sera (mit virulenten T_0 -Kulturen gewonnen) zeigten die gleichen Werte wie vor der Erhitzung. annähernd auch nach der Erhitzung des Serums auf $60-62^\circ$. War diese Thermostabilität dieser Sera auch abweichend von den Joosschen Befunden, so konnte doch bei der zweiten Reihe der T_0 -Sera (gewonnen mit minder virulenten T_0 -Kulturen) eine jener der Joosschen Sera analoge Agglutinationswirkung für T_0 und T_{60} gefunden werden. Ein solches Serum agglutinierte T_0 hochwertig, T_{60} hingegen in geringem Maße. T_{60} wurde von dem selbst auf $60-62^\circ$ erhitzten T_0 -Serum nicht mehr agglutiniert, freilich war — bei Joos war dies nicht der Fall — nach der Erhitzung des Serums auch die Agglutination für T_0 in ihrem Titer herabgesetzt. Die von mir untersuchten T_{60} -Sera zeigten in der größten Zahl der Fälle — eine der Ausnahmen finden wir bei dem Ziegenserum der Tabelle XII — einen gleich hohen Agglutinationswert für T_0 und T_{60} . Die Agglutinationswerte der Sera, sowohl für T_0 als auch für T_{60} , blieben konstant auch nach der Erhitzung des Serums auf $60-62^\circ$ ¹⁾. Auch bei dem Ziegenserum, das T_0 und T_{60} in verschiedenen Werten agglutinierte, war Konstanz der Werte nach Erhitzung des Serums zu beobachten.

Stimmen auch diese Resultate in manchem Detail nicht mit den Angaben Joos' überein, so sind sie doch im ganzen und großen als Bestätigung der Joosschen Agglutinationsversuche zu betrachten.

Anders verhält es sich nun mit den übrigen Punkten der Joosschen Arbeit, mit seinen Absorptionsversuchen und den aus den Versuchen gezogenen Schlüssen. Hier führten meine Arbeiten zu einem durchaus anderen Ergebnisse.

Konnte ich bereits (l. c.) an der Hand der Joosschen Versuchsreihen nachweisen, daß wohl Joos eine tatsächlich vorhandene Absorption seines α -Agglutinins (d. i. des für T_0 spezifischen Agglutinins) durch T_{60} übersehen haben dürfte, so bestätigten meine Versuche diesen Einwand vollends. Denn in der Tat konnte ich bei den T_0 -Seris mit T_{60} das T_0 -Agglutinin vollständig absorbieren. Da andererseits auch T_0 das für T_{60} wirksame Agglutinin durch Absorption ausfällen konnte, mußte die Joossche Annahme, daß bei den T_0 -Seris 2 je für T_0 und für T_{60} spezifisch wirkende Agglutinine die Ursache für die verschiedene Agglutinabilität von T_0 und T_{60} seien, fallen. Trotz der Tatsache, daß bei den T_0 -Seris verschiedene Agglutinabilität der T_0 und T_{60} stattfand, ferner trotz der Tatsache, daß in der einen Versuchsreihe Erhitzung des Serums die Agglutinabilität von T_0 nicht beeinflußt, die Agglutination von T_{60} hingegen gänzlich aufhebt, ist auf Grund der Absorptionsversuche die Existenz scharf geschiedener Agglutinine im T_0 -Serum, einer thermostabilen T_0 - und einer thermolabilen T_{60} -Modifikation, ausgeschlossen. Zudem konnte ich auch nachweisen, daß auch die bei 100° erhitzten Typhusbacillen, wenn sie auch nur in niedrigen und nach Erhitzung des Serums gänzlich verschwindenden Werten agglutiniert werden, dennoch dasselbe Agglutinin binden, das die lebenden und die bei $60-62^\circ$ erhitzten Typhusbacillen zu ihrer Agglutination beanspruchen.

Also, können wir sagen, hat die Joossche Hypothese von dem Bestehen verschiedener, für verschiedene Bakterien-

1) Während ich selbst nach 6-stündiger Erhitzung des Serums bei $60-62^\circ$ keine merkliche Abnahme des Agglutinationstiters für T_{60} finden konnte, hat Joos bei seinem Serum bei 2-stündiger Erhitzung eine Abnahme konstatieren können.

leibesmodifikationen spezifischer und voneinander scharf getrennter Agglutinine in ein und demselben T_0 -Serum (resp. T_{60} -Serum) keine Berechtigung.

Fassen wir noch die übrigen Resultate meiner Arbeit zusammen, so ist es bemerkenswert, daß bei Anwendung von T_0 -Serum sowohl als von T_{60} -Serum die erhitzten Bacillen mehr Agglutinine zu binden vermochten als die unerhitzten. Da bei der Absorption der T_0 -Serumagglutinine die Absorptionsgrößen im umgekehrten Verhältnis zu der Agglutinabilität der betreffenden Typhusbacillenmodifikation standen, bei dem T_{60} -Serum aber trotz gleicher Agglutinabilität T_{60} mehr Agglutinin absorbierte als T_0 , so scheint es zweifelhaft, ob Agglutinabilitätswert und Bindungsfähigkeit miteinander in ursächlichem Zusammenhange stehen.

Immunisation mit gleichen Mengen von T_0 , T_{60} , T_{60} und T_{100} ergab Sera, von denen die mit T_0 , T_{60} und T_{100} gewonnenen Sera annähernd gleichwertig waren, während das T_{60} -Serum bedeutend hochwertiger agglutinierte.

Durch meine Resultate habe ich, wie ich glaube, beweisen können, daß die schematische Differenzierung der agglutinierenden Substanz in ein thermostabiles und ein thermolabiles Spezialagglutinin nicht zutrifft.

Die wirklichen Verhältnisse liegen viel komplizierter als wie sie Joos schildert. Bereits Ehrlich, R. Pfeiffer u. A. haben angenommen, daß das, was wir unter dem Namen „spezifische Immunkörper“ oder „Immuns substanz“ des Serums zusammenfassen, ein äußerst kompliziertes Gefüge von einzelnen Komponenten sei.

Meine Erfahrungen haben diese Annahme bestätigt. Das sogenannte Typhusimmunagglutinin ist aus einer Unzahl von miteinander zusammenhängenden und zusammenwirkenden Komponenten zusammengesetzt, deren quantitative Anordnung in verschiedenen Seris eine verschiedene ist, wodurch die agglutinierende Wirkung quantitativ und qualitativ Abstufungen erfährt. Die einzelnen Komponenten, die die Verschiedenheit in den einzelnen Funktionen des Agglutinins (für T_0 , T_{60} , T_{100} etc.) bedingen, hängen miteinander durch eine gemeinsame bindungsfähige Gruppe, die überdies sowohl thermostabil ist als auch sonst ziemlich standhaft anderen schädigenden Einflüssen trotz, zusammen; daher kommt es, daß einerseits jedwede Bakterienmodifikation die ganze Agglutininmenge absorbieren kann, daß aber andererseits je nach dem quantitativen Vorkommen der einzelnen als funktionelle Komponenten wirkenden Gruppen die Wirkung der einzelnen Sera auf die verschiedenen Typhusbacillenmodifikationen eine wechselnde sein muß.

Andererseits ist auch der Aufbau der sogenannten „immunisierenden Typhusbacillenleibsubstanz“ resp. des Agglutinogens nicht einheitlicher Natur. Auch hier ist ein Komplex der mannigfachsten Substanzen gleichzeitig wirksam; sowohl bei der Immunisation als auch bei der Agglutination zeigen diese einzelnen Substanzen spezielle Beziehungen zu den einzelnen funktionellen Komponenten des Immunagglutinins. Bei der Verschiedenheit in der Anordnung und in der Menge dieser Substanzen in verschiedenen Typhusstämmen ist es dann erklärlich, daß bei der Immunisation, wenn einzelne Agglutinogenkomponenten stärker in Wirkung kommen, in dem gewonnenen Immunserum die für die betreffenden Agglutinogenkomponenten besonders in Wirkung tretenden Agglutininkomponenten gewissermaßen hypertrophieren, d. h. besonders stark sich entwickeln, während andere in geringem Maße vorhandenen Agglutinogenkomponenten dann in dem betreffenden Immunserum minder entwickelten Agglutininkomponenten entsprechen.

So wie sich die Anordnung und die Quantität dieser einzelnen Agglutinogenkomponenten bei verschiedenen Typhusstämmen verschieden verhält und deshalb einen verschiedenen immunisatorischen Effekt erzielt, so wird auch die Anordnung und die Menge der einzelnen Agglutinogenkomponenten bei artifiziieller Modifikation der Leibessubstanz verändert und hierdurch ein anderer immunisatorischer Effekt erzielt.

Das gemeinsame aller dieser einzelnen Agglutinogene ist eine und dieselbe spezifische haptophore Gruppe, die, wie Nicolle für die haptophore Gruppe als erster nachwies, den weitgehendsten Schädigungen der Bakterien-substanz trotz, weshalb auch noch bei sehr veränderten, nicht mehr agglutinablen Bakterien die Bindungsfähigkeit erhalten ist.

Warum erhitze Typhusbacillen in meinen Versuchen eine größere Menge der gesamten Agglutininsubstanz zu binden vermochten wie die lebenden Typhusbacillen, darüber wage ich derzeit keine Erklärung abzugeben. Vielleicht wird die Fortsetzung dieser Versuche darüber Klarheit verschaffen.

Ich möchte die Resultate, die sich aus den Joosschen Untersuchungen sowohl als aus meinen Versuchen ergeben, in folgende Schlüsse zusammenfassen.

1) Die Immunisation mit verschiedenartigen Typhusstämmen gibt wechselnde immunisatorische Effekte, ebenso wie verschiedene Stämme mit denselben Agglutininen verschieden reagieren.

2) Bei Veränderung der Bacillen ein und derselben Typhuskultur durch die Hitze oder durch chemische Einflüsse werden bei der Immunisation mit einer dieser Modifikationen Sera gewonnen, die in ihrer Agglutininstruktur von den Seris, die mit der lebenden Kultur oder einer der anderen Modifikationen gewonnen sind, sich wesentlich unterscheiden.

Lebende Typhusbacillen z. B. erzeugen Sera, die lebende Bacillen sehr hoch, bei 60° erhitze Bacillen niedriger agglutinierten. Der Agglutinationswert des Serums bleibt bei der Erhitzung des Serums auf 60—62° für lebende Bacillen annähernd erhalten, für bei 60—62° erhitze Typhusbacillen zeigt die eine Reihe der agglutinierenden Sera Thermokonstanz, die andere Thermolabilität. 100°-Bacillen werden von beinahe allen Seris nur niedrig — und da nur vom unerhitzten Serum — agglutiniert. Bei 60—62° erhitze Typhusbacillen geben Sera, die erhitzt und unerhitzt lebende und bei 60—62° erhitze Typhusbacillen annähernd gleichwertig agglutinieren.

3) Bis zu 100° erhitze Typhusbacillen absorbieren aus agglutinierenden Seris eine größere Menge der agglutinierenden Substanz als unerhitzte.

4) Mit jeder der angewandten Typhusbacillenmodifikationen kann man die gesamte Menge des Agglutinins den Seris entziehen.

5) Agglutinabilität und Bindungsfähigkeit scheinen nicht in ursächlichem Zusammenhange zu stehen.

6) Die bei 60° erhitzten Typhusbacillen erzielen bezüglich der Agglutination den besten immunisatorischen Effekt.

7) Die agglutinogene Substanz des Bakterienleibes ist ein Komplex von zahlreichen, untereinander verschiedenen Eiweißkörpern; sie alle haben infolge einer sehr stabilen spezifischen Gruppe eine spezifische Bindungsfähigkeit für die spezifischen Agglutinine.

8) Das Agglutinin ist ein sehr kompliziertes Gefüge der verschiedenartigsten, bei der Funktion für die einzelnen Agglutinogensubstanzen in

Wirksamkeit tretenden Komponenten; diese Komponenten hängen vermöge einer gemeinsamen haptophoren Gruppe miteinander zusammen. Diese haptophore Gruppe, die thermostabiler Natur ist, besorgt die spezifische Bindung mit allen spezifischen agglutinogenen Substanzen des Bakterienleibes.

Zum Schlusse möchte ich noch über eine Beobachtung vorläufig kurz berichten, die ich bei zahlreichen Agglutinationsversuchen gemacht habe.

Wenn ich gleich nach Entnahme des Blutes dasselbe zentrifugiert und den Titer festgestellt hatte, so konnte ich oft nach einigen Tagen bei Benutzung desselben Serums unter gleichen Bedingungen zu meiner Ueberraschung wahrnehmen, daß die Agglutinationskraft um ein bedeutendes erhöht war.

Ich verfolgte dieses Phänomen und konnte in vielen Fällen eine Steigerung des Titers auf mehr als das Doppelte im Laufe der ersten Tage nach der Entnahme wahrnehmen (s. Tabelle XVII).

Tabelle XVII.
Serum BT in seiner Agglutinationskraft a) gleich nach der Entnahme, b) 3 Tage nach der Entnahme.

Serum + Bacillen	Serum BT gleich nach der Entnahme	Serum BT 3 Tage nach der Entnahme
Serum BT + lebende Typhusbacillen	1 : 2560 Spuren	1 : 6144 vollständig
Serum BT + bei 60–62° erhitzte Typhusbacillen	0	1 : 200 „ 1 : 400 spurenweise

Es kann sich hier nur um Stoffe labiler Natur handeln, welche das Agglutinationsphänomen hemmen; vielleicht kann man an Resten jener Substanzen denken, die innerhalb des Organismus dies Phänomen der Agglutination verhindern.

Welcher Natur diese Stoffe sind, sei einem weiteren Studium vorbehalten.

Ausgehend von der Beobachtung, daß diese Stoffe, weil innerhalb der ersten 2–3 Tage aus dem Serum verschwindend, labiler Natur sein müssen, versuchte ich, ob nicht bei vorsichtiger Erhitzung ein oder das andere Serum gleich nach seiner Entnahme eine Steigerung seiner Wirkung erfahren würde.

Tabelle XVIII zeigt, daß dies tatsächlich der Fall ist.

Tabelle XVIII.

Serum	Agglutinations-titer
gleich nach der Entnahme	2560
1 Stunde bei 50° erwärmt	2560
1 Stunde bei 50°, dann 1/2 Stunde bei 55° erwärmt	5120

Ich will vorläufig hieran keine Schlußfolgerungen knüpfen, glaube aber andererseits, diese merkwürdige Tatsache im Anschlusse an die oben mitgetheilten Versuche und die sich daraus ergebenden Schlüsse erwähnen zu dürfen. Die einschlägigen ausführlichen Untersuchungen hierüber sind im Gange.

Ich möchte es an dieser Stelle nicht unterlassen, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Professor Dr. R. Pfeiffer, für sein gütiges Interesse an dem Verlaufe meiner Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- Außer den in meiner Arbeit (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXXVI. 1904. No. 3) zitierten Arbeiten seien hier noch erwähnt:
- Ehrlich, Schlußbetrachtungen. (Nothnagels Handbuch d. int. Med. Bd. VIII. Wien 1901.)
- u. Morgenroth, Ueber Hämolyse. (Berl. klin. Wochenschr. 1901.)
- Friedberger, E., Ueber die Bedeutung anorganischer Salze und einiger kristalloider Substanzen für die Agglutination der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. p. 336.)
- Gruber, Münch. med. Wochenschr. 1896 u. 1897.
- Kraus, R. und Joachim erwähnt bei Paltauf, R., Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 50. p. 946.
- Nicolle, Recherches sur la substance agglutinée. (Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. p. 161.)
- et Trénel, De la nature de la combinaison etc. (Compt. rend. soc. Biol. 1900. p. 1088.)
- Widal et Sicard, Études sur l'agglutination. (Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)

Nachdruck verboten.

Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera.

[Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität Turin (Prof. Perroncito). Von Herrn Prof. A. Bruschetti geleitete Abteilung.]

Von Dr. Silvio Sartirana.

In einer früheren Arbeit¹⁾ konnte ich nachweisen, daß die abwechselnde Injektion von defibriniertem Blute und von Nervensubstanzemulsion von Meerschweinchen zur Bildung eines äußerst hämolytischen und neurotoxischen Serums führt, während durch abwechselnde Injektion von defibriniertem Blute und Nebennierenextrakt von Meerschweinchen kein hämolytisches Vermögen und bloß ein schwaches Nebennieren-toxisches Vermögen dem Hühnerserum erteilt wird. Dies führt zur Vermutung, daß sich die Nebennierenextrakte und das defibrinierte Blut gegenseitig beeinflussen und sich vernichten.

Wegen der Wichtigkeit des Gegenstandes und auch wegen der neuen gewonnenen Kenntnisse über die Wirkung der hämolytischen und cytotoxischen Sera nahm ich mir vor, diese meine Beobachtungen durch neue experimentelle Untersuchungen, deren Ergebnisse ich hier mitteilen will, eingehend zu erforschen und zu erweitern.

Alle Versuche wurden an Kaninchen und Hühnern angestellt. Die Tiere, die das Blut oder die Organe zur Bereitung der Emulsionen lieferten, waren Meerschweinchen. Das Blut wurde aseptisch in Glasstücke enthaltenden sterilisierten Kolben gesammelt; nach der Defibrinierung wurde das Blut in sterilisierten Röhren verteilt. Zur Bereitung der Organemulsion wurden die Organe mittels sterilisierter Instrumente

1) Sartirana, Beitrag zum Studium der cytotoxischen Sera. (Progresso medico. 1902. No. 15.)

ausgeschnitten und in einer ebenfalls sterilisierten Porzellanreibschale nach Zusatz von Glaspulver zerrieben.

Die Emulsion wurde dann mit physiologischer Lösung verdünnt und durch ein dichtes Metallnetz filtriert.

Es sei sofort bemerkt, daß bei allen Versuchen jene Tiere immer ausgeschlossen wurden, welche an der Injektionsstelle Abscesse zeigten. Großen Unterschied bemerkte ich in der Widerstandsfähigkeit gegen die Injektion der Organextrakte zwischen den Kaninchen und den Hühnern. Während die letzteren ohne wahrnehmbare Störungen widerstanden und dann ein sehr wirksames Serum lieferten, kamen die Kaninchen hingegen während der Behandlung sehr herunter und lieferten dann nur mit Schwierigkeit und nicht beständig ein wirksames Serum. Die fortgesetzte Behandlung z. B. mit Emulsion von Meerschweinchennebnieren führte schließlich die Kaninchen zum Tode infolge von Marasmus.

Meine Untersuchungen können folgenderweise eingeteilt werden: 1) Fortgesetzte Injektion von Extrakt von Meerschweinchennebnieren beim Kaninchen. 2) Gleichzeitige Injektion von Nebennierenemulsion und defibriniertem Blute von Meerschweinchen beim Kaninchen. 3) Gleichzeitige Injektion von Nebennierenemulsion und defibriniertem Blute von Meerschweinchen beim Huhn. 4) Gleichzeitige Injektion von Nebennieren und Gehirnemulsion von Meerschweinchen beim Huhn. 5) Gleichzeitige Injektion von Gehirnemulsion und defibriniertem Blute von Meerschweinchen beim Huhn.

I. Fortgesetzte Injektion von Nebennierenemulsion von Meerschweinchen beim Kaninchen.

Die Emulsion wurde zubereitet, indem man in einer sterilisierten Reibschale zwei Meerschweinchennebnieren sorgfältig zerrieb, und dann mit physiologischer Lösung verdünnte und durch ein engmaschiges Metallnetz hindurchfiltrierte. Die Emulsion der zwei Nebennieren wurde in einer einzigen Sitzung einem Kaninchen unter die Haut injiziert. Die Injektion wurde jeden zweiten Tag wiederholt. Die Tiere wurden durchschnittlich einen Monat behandelt, dann durch Verblutung getötet — weil nach dieser Zeitperiode ihre Gesundheitsbedingungen so heruntergekommen und ihre Abmagerung so stark war, daß man ihren Tod jeden Augenblick fürchtete. Es trat niemals Absceßbildung an der Injektionsstelle auf. Bei der Autopsie fand man die Milz von normaler Farbe und Größe, die Leber mit einigen gelblichen kleinen Flecken, den Verdauungsapparat stark injiziert, die Nieren blaß, namentlich in der Marksubstanz. Die Nebennieren an Größe zugenommen, blaß, leicht zerbrechlich, zeigten in der mikroskopischen Untersuchung eine schwache Kongestion namentlich der Marksubstanz mit hier und da zerstreuten punktförmigen Blutungsherden.

Das Blut dieser Tiere wurde in Röhren angesammelt und zur Gewinnung des Serums gerinnen lassen.

Es sei bemerkt, daß bei allen Tieren dieser Reihe die Blutgerinnung viel rascher stattfand, als sie normalerweise beobachtet wird.

Mit dem gewonnenen Serum wurden Versuche *in vitro* und *in vivo* angestellt.

Versuche *in vitro*. In kleinen sterilisierten Röhren wurden zu 5 ccm von sehr feiner zentrifugierter Nebennierenemulsion von einem durch Verblutung getötetem Meerschweinchen 5 ccm Serum von einem behandelten Kaninchen hinzugesetzt. Nach 6 Stunden war schon eine starke Trübung zu beobachten, welche dann von einem Niederschlag gefolgt

war, der binnen 12 Stunden sehr deutlich wurde. Bei der mikroskopischen Untersuchung dieses Niederschlages, selbst durch Methylenblaufärbung, sah man die Zellelemente geschwollen, deren Protoplasma sehr schwer färbbar war. Kontrollversuche — Emulsion von Meerschweinchennebnieren und normales Serum von Kaninchen in Berührung gebracht — wiesen selbst nach 15—16 Stunden vollkommene Erhaltung der Zellelemente auf.

Bei Verminderung der Serummenge von einem behandelten Kaninchen war die Reaktion kaum sichtbar, derart, daß ich aus dem Durchschnitt der angestellten Versuche schließen kann, daß das Serum von selbst einen Monat lang mit Nebennierenemulsion von Meerschweinchen behandeltem Kaninchen nur ein schwaches cytolytisches Vermögen gewinnt. Das Serum weist kein hämolytisches Vermögen auf.

Versuche *in vivo*. Meerschweinchen A. Intraperitoneal werden 3 ccm aktiven Serums injiziert. Bald darauf zeigt sich Mattigkeit, Zittern, Krämpfe, Lähmung. Die Atmung ist erschwert und das Tier steht kaum wieder auf, wenn es auf den Rücken gelegt wird. Nach wenigen Stunden verschwinden die Erscheinungen und nach 4 Tagen ist das Tier vollständig wiederhergestellt. Dann wird eine zweite Injektion von 4 ccm auch intraperitoneal ausgeführt. Es wiederholen sich dieselben Symptome, die rasch verschwinden. 7 Tage nach dieser Injektion wird eine dritte von 8 ccm gemacht: bald darauf zeigen sich sehr schwere tonisch-klonische Krämpfe, auf welche Lähmung folgt und nach wenigen (9) Stunden tritt der Tod ein.

Bei der Autopsie: Nieren und Milz normal, außer einem schwachen Grad von Kongestion. Gehirn äußerst injiziert, Konsistenz vermindert. Nebennieren stark injiziert und verhärtet. Sehr deutliche Leukocytose. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt sich in den Nebennieren Vakuolisierung des Protoplasmas, das sich schwer färbt, vornehmlich in der Marksubstanz diffuse Blutungsherde, normales Bindegewebe. Im Gehirn punktförmige Hämorrhagieen, schwache Chromatolyse. Die Weigert'sche und die Nissl'sche Methode zeigen keinerlei Veränderungen.

Meerschweinchen B. Intraperitoneale Injektion von 9 ccm aktiven Serums. Bald nach der Injektion die gewöhnlichen, aber noch schwereren Erscheinungen, und nach 14 Stunden geht das Tier zu Grunde. Die makroskopische wie die mikroskopische Untersuchung zeigte dieselben Veränderungen wie bei Meerschweinchen A.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, daß die Injektion von Nebennierenemulsion von Meerschweinchen beim Kaninchen dem Serum dieses Tieres bloß ein schwaches cytotoxisches Vermögen erteilt und dies auch nicht konstant; da 3 auf 8 von mir behandelten Tieren ein Serum lieferten, welches kaum wahrnehmbare cytologische Eigenschaften zeigte.

II. Gleichzeitige Injektionen von Nebennierenemulsion und defibriertem Blute von Meerschweinchen bei Kaninchen und Hühnern.

Die angewendete Versuchstechnik war die folgende: Im Augenblicke des Gebrauches bereitete man in der gewöhnlichen Weise eine Emulsion von Nebennieren (zwei für jede Injektion) und zu dieser Emulsion fügte man eine gleiche Menge defibrierten Blutes hinzu. Bald darauf wurde die Mischung den Kaninchen unter die Haut und den Hühnern in die Muskeln und manchmal auch (bei den letzten Injektionen) intraperitoneal injiziert. Die Injektionen wurden jeden zweiten Tag ungefähr während eines Monats fortgesetzt. Auch bei diesen Versuchen reagierten die

Kaninchen viel mehr als die Hühner, denn während die letzteren nur etwas angegriffen und heruntergekommen waren, waren die Kaninchen sehr abgemagert, sie fraßen wenig und blieben an einer Ecke des Käfigs schläfrig matt liegen.

A. Versuche an Kaninchen.

Die Kaninchen wurden ungefähr einen Monat lang behandelt, und 5 Tage nach der letzten Injektion verblutet. Bei der Autopsie nichts Bemerkenswertes, außer den vergrößerten, blassen und weichen Nebennieren. Bei der mikroskopischen Untersuchung schwacher Grad von Kongestion, vollkommene Abwesenheit von Blutungsherden. Kurz, Läsionen, die bei weitem weniger erheblich waren als die, welche man in den Nebennieren von den bloß mit Nebennierenextrakt von Meerschweinchen behandelten Kaninchen beobachtete.

Mit dem aus diesen Kaninchen gewonnenen Serum wurden Versuche in vitro und in vivo angestellt.

Versuche in vitro.

Tabelle 1.

Versuche an defibriniertem Meerschweinchenblute, zentrifugiert, gewaschen und auf das Anfangsvolumen durch Zusatz von physiologischer Lösung zurückgeführt. NB. Die Röhre wurde bei einer Temperatur von 16–18° C gehalten.

Menge d. defibrinierten Blutes	Menge des wirksamen Serums	Berührungsdauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	2 Stunden	vollständige Hämolyse
2 "	0,50 "	2 "	beginnende "
2 "	0,50 "	5 "	vollkommene "
2 "	0,10 "	4 "	Spuren von "
2 "	0,10 "	6 "	schon deutliche "
2 "	0,10 "	8 "	vollkommene "
2 "	0,05 "	6 "	Spuren von "
2 "	0,05 "	10 "	kaum beginnende "
2 "	0,05 "	14 "	deutliche "
2 "	0,05 "	20 "	vollkommene "
2 "	0,01 "		nach 24 Stunden Spuren von Hämolyse

Tabelle 2.

Versuche an Emulsion von durch ein Metallnetz filtrierten und zentrifugierten Meerschweinchennebennieren. Röhre bei einer Temperatur von 16–18° C gehalten.

Menge d. Nebennierenemulsion	Menge des wirksamen Serums	Berührungsdauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	4 Stunden	Schwellung der Zellen: Vakuolisierung des Protoplasmes, schwache Affinität für die basischen Farben
2 "	0,50 "	6 "	dasselbe, aber viele Elemente sind erhalten
2 "	0,50 "	10 "	wie bei der ersten
2 "	0,10 "	8 "	Agglutination
2 "	0,10 "	14 "	vollkommene Fällung, mikroskopische Untersuchung wie oben
2 "	0,05 "	19 "	nichts
2 "	0,05 "	22 "	nichts

Versuche in vivo.

Meerschweinchen A. Intraperitoneale Injektion von 3 ccm wirksamen Serums. Bald darauf die gewöhnlichen Krämpfe, von Läh-

mung gefolgt. Das Tier stirbt am 3. Tage. Bei der Autopsie Gefäßinjektion an allen Organen, Nebennieren mit Blutungen, Gehirn stark injiziert.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt Vakuolisierung und parenchymatöse Entartung der Nebennieren. Blutungsherde im Gehirn, Karyolyse.

Meerschweinchen B. Intraperitoneale Injektion von 5 ccm wirksamen Serums. Die gewöhnlichen Erscheinungen: Tod nach 32 Stunden. Die anatomischen und mikroskopische Untersuchung ergibt die gleichen Läsionen wie bei Meerschweinchen A.

B. Versuche an Hühnern.

Die Hühner wurden ebenso wie die Kaninchen mit der beschriebenen Mischung ungefähr einen Monat behandelt und 5 Tage nach der letzten Injektion verblutet. Keine wahrnehmbare Veränderung der Nebennieren und des Gehirns, sowohl bei der anatomischen wie bei der mikroskopischen Untersuchung. Mit dem gewonnenen Serum wurden, wie gewöhnlich, Versuche in vitro und in vivo angestellt.

Versuche in vitro.

Tabelle 3.

Wirksames Hühnerserum und Emulsion von gewaschener und zentrifugierter Meerschweinchennebenniere.

Menge d. Nebennierenextraktes	Menge des Serums	Berührungsdauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	8 Stunden	vollkommene Cytolyse
2 "	0,50 "	10 "	" "
2 "	0,10 "	14 "	" "
2 "	0,01 "	18 "	sehr deutliche "
2 "	0,01 "	23 "	vollkommene "

Tabelle 4.

Wirksames Hühnerserum und Emulsion von gewaschenem und zentrifugiertem Meerschweinchengehirn.

Menge der Gehirnemulsion	Serummenge	Berührungsdauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	10 Stunden	Cytolyse
2 "	0,50 "	16 "	" "
2 "	0,10 "	20 "	Trübung u. Andeutung von Niederschlag
2 "	0,10 "	28 "	deutliche Cytolyse
2 "	0,10 "	35 "	vollkommene "
2 "	0,05 "	48 "	nichts außer einer schwachen Trübung

Tabelle 5.

Wirksames Hühnerserum und defibriniertes, gewaschenes Meerschweinchenblut.

Menge d. defibrinierten Blutes	Serummenge	Berührungsdauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	8 Stunden	nichts
2 "	1 "	14 "	Agglutination: keine Hämolyse
2 "	1 "	26 "	keine Hämolyse
2 "	1,50 "	21 "	" "
2 "	2 "	24 "	Agglutination, aber keine Spur von Hämolyse

(Schluß folgt.)

Sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal.

(Recherches complémentaires.)

[Institut bactériologique de l'Université de Liège
(Dir.: Prof. Dr. E. Malvoz).]

Par le Dr. **Yvo Pirrenne.**

Nous croyons avoir établi dans un mémoire publié dans ces *Annales*¹⁾, qu'il existe dans le sérum normal du rat deux substances microbicides de nature essentiellement différentes et présentant chacun des caractères spéciaux.

La première exerce son action destructive, non seulement sur la bactériodie charbonneuse ainsi que l'avait montré Behring, mais encore sur tous les bacilles du même groupe naturel que le *Bacillus anthracis*. Pour la facilité de l'exposé, nous la désignons sous le nom de substance bactéricide. La seconde est microbicide pour le *Vibrio cholérique* de Koch: nous l'appellerons la substance vibrionicide.

Nous avons démontré que l'on peut différencier la substance bactéricide de la substance vibrionicide par le chauffage à 56°, la neutralisation, la durée de conservation, le filtrage et par l'addition d'hématies sensibilisées; que le sérum de rat possède une alexine hémolytique qu'aucune expérience ne permet de différencier de la substance vibrionicide, tandis que la substance bactéricide ne possède aucune des propriétés de l'alexine hémolytique; que le sérum de rat possède une sensibilisatrice et une agglutinine normales spécifiques pour le vibrion cholérique (ce qui peut rendre compte de l'immunité naturelle de cet animal vis-à-vis de l'infection cholérique); que, par contre, il n'existe pas dans ce sérum de sensibilisatrice normale pour la bactériodie charbonneuse (ce qui est en parfait accord avec des expériences de Mr. le Professeur Malvoz²⁾; enfin que le rat n'est pas réfractaire à l'infection charbonneuse, ce qui concorde avec les données acquises par Metchnikoff et Roux³⁾.

D'autre part, du fait notamment qu'en injectant au cobaye du sérum de rat, nous avons obtenu une antialexine paralysant la substance hémolytique et vibrionicide, tandis que le sérum de ce cobaye ne neutralisait jamais la substance bactéricide, nous avons déjà conclu qu'il fallait refuser à la substance bactéricide la qualité d'alexine.

Les expériences dont nous allons exposer les résultats viennent confirmer la thèse que nous avons déjà soutenue dans notre précédent travail.

Mais avant d'entrer dans le détail des essais institués à cet égard et qui nous paraissent très nettement concluants, il convient, nous semble-t-il, de définir ce qu'on doit désigner par le mot d'alexine et

1) Pirrenne, Yvo, Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 2 et 3.)

2) Malvoz, Sur les fixateurs du sérum normal de chien. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1902.)

3) Metchnikoff et Roux, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1891.

d'indiquer quelques-unes des propriétés considérées dans l'état actuel de nos connaissances comme caractéristiques de ces substances.

A. Quelles sont les substances que l'on doit faire entrer dans la catégorie des alexines?

Si l'on veut s'en tenir aux indications des savants (Buchner, Ehrlich, Bordet, etc.) qui se sont tout particulièrement attachés à cette question, on ne doit donner le nom d'alexines qu'aux substances normales et non spécifiques des sérums, capables d'imprégner toutes espèces de microbes ou d'hématies (à la condition que ceux-ci aient été impressionnés par leurs sensibilisatrices spécifiques) et de provoquer ainsi le phénomène de l'hémolyse ou de la destruction microbienne, soit *in vitro*, soit *in vivo*.

Or, le sérum de rat chauffé à 56°, qui contient la substance bactéricide, se montre complètement incapable, au contact d'hématies ou de vibrions cholériques, même après sensibilisation, de provoquer l'hémolyse ou le phénomène de Pfeiffer. La substance bactéricide n'exerce donc pas une action destructive indifférente mais bien élective, ce qui est contraire à la notion d'alexine.

B. Enumérons d'autre part quelques caractères essentiels des alexines; nous verrons ensuite si l'on peut les attribuer aux substances bactéricide et vibrionicide du sérum de rat.

1) Les alexines sont détruites par le chauffage à 56° pendant 40 minutes.

Cette réaction de température est considérée à elle seule par Hahn¹⁾ comme le critérium des alexines. Cependant nombreux sont les auteurs qui, ayant découvert dans certains sérums ou humeurs des substances microbicides résistant à cette température, leur donnent malgré cela le nom d'alexines. C'est à notre avis étendre prématurément la notion d'alexine. Il n'est, en effet, aucun de ces chercheurs qui se soit assuré, quand il rencontre une substance bactéricide thermostable, que cette substance possède les autres propriétés caractéristiques des alexines dont nous parlerons plus loin. — Or, si toute substance microbicide thermostable doit être considérée comme alexine, on arrivera à qualifier d'alexines des substances aussi éloignées de ces dernières que les produits phénoliques, par exemple, qui peuvent être, dans certains troubles intestinaux, en circulation dans le sang avant d'être éliminés par les émonctoires naturels à l'état de dérivés sulfoconjugués.

2) Les alexines sont très sensibles à l'action de la lumière.

L'action directe du soleil rend un sérum complètement inactif (Buchner).

3) Les alexines injectées dans les tissus d'un animal y amènent la formation de substances inhibitrices ou antialexines (Bordet).

4) L'activité des alexines est suspendue pendant le temps où on les soumet à la température de 0° centigrade (Ehrlich).

5) L'activité des alexines n'est pas suspendue par la neutralisation du sérum (Buchner, Hahn, 1904).

6) Les alexines ne persistent que quelques jours dans les sérums abandonnés à eux-mêmes (Bordet).

1) Hahn, *Natürliche Immunität (Resistenz)*. (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. 1904.)

Voyons si les substances bactéricide, vibrionicide et hémolytique du sérum de rat possèdent ces prédicats caractéristiques des alexines :

a) **Température.** Les substances hémolytique et vibrionicide sont anéanties par le chauffage à 56° pendant 40 minutes. La substance bactéricide par contre est thermostable.

b) **Neutralisation.** Il résulte de nos expériences précédemment exposées que tandis que la substance bactéricide est détruite par la neutralisation, la substance vibrionicide se conserve aussi bien qu'en milieu alcalin.

Nous avons d'autre part recherché si la substance hémolytique du sérum de rat agit aussi en milieu neutre.

On peut constater par le tableau ci-dessous que l'alexine hémolytique du rat se comporte comme la substance vibrionicide et comme les alexines des autres animaux, prises à titre de sérum.

Tableau I.
Action hémolytique du sérum de rat neutralisé.

Sérum 4 gouttes + eau physiologique 8 gouttes	Après addition de 2 gouttes d'hématies sensibilisées	Après addition de B. de Koch sensibilisées
I.		
a) Sérum de rat normal	Hémolyse	Phén. de Pfeiffer
b) Sérum de rat neutralisé (par l'acide tartrique)	"	" " "
c) Sérum de rat acidifié	pas d'hémolyse	pas de phén. de Pfeiffer
II.		
a) Sérum de lapin normal	hémolyse	phén. de Pfeiffer
b) Sérum de lapin neutralisé	"	" " "
c) Sérum de lapin acidifié	pas d'hémolyse	pas de "phén." de Pfeiffer
III.		
a) Sérum humain normal	hémolyse	phén. de Pfeiffer
b) Sérum humain neutre	"	" " "
c) Sérum humain acidifié	pas d'hémolyse	pas de "phén." de Pfeiffer

c) **Lumière.** Nous avons recueilli le sang de cinq rats et avons réparti le sérum en une trentaine de petits tubes stériles scellés à la lampe, contenant chacun 5 gouttes du liquide.

Un tiers de ces tubes a été soumis pendant quinze jours à l'action de la lumière solaire. Le second tiers a été conservé dans la chambre noire à la température du même local. — Le reste a été mis à la glacière. Nous nous sommes servis d'une partie de ces sérums après 8 jours et de l'autre après 15 jours.

Ainsi qu'on peut le constater au tableau II ou nous réunissons quelques chiffres, la substance bactéricide ne se comporte pas comme une alexine vis-à-vis de la lumière, en ce sens qu'elle se conserve parfaitement même après 15 jours d'insolation.

Par contre, la substance vibrionicide est déjà détruite après une huitaine de jours.

Nous avons pu constater d'autre part que l'alexine hémolytique est déjà complètement détruite après 8 jours d'exposition à la lumière directe du soleil, ainsi que cela ressort nettement du tableau III.

Tableau II.
Action de la lumière sur le sérum de rat.

Éléments en contact	Nombre de colonies	
	après 5 minutes	après 24 heures
I. Sérum de rat insolé 15 jours + charbon vaccin I	1260	0
II. Sérum de rat conservé à l'ob- scurité 15 jours à 20° + charbon vaccin I	990	0
III. Sérum de rat insolé pendant 8 jours + vibrions cholé- riques	∞	∞

Tableau III.
Action de la lumière sur l'alexine hémolytique du rat.

Sérum 2 gouttes + eau physiologique 4 gouttes	Après addition d'hématies sensibilisées 1 goutte
Sérum de rat insolé 8 jours Tube I	Pas d'hémolyse même après 2 heures idem
" II	
" III	
Sérum de rat conservé à l'obscurité à 20° pendant 8 jours Tube I	hémolyse complète après 10 minutes idem
" II	
" III	
Sérum de rat insolé 15 jours Tube I	pas d'hémolyse idem
" II	
Sérum de rat conservé à l'obscurité 15 jours à 20° Tube I	faible trace d'hémolyse après 3 heures 1/2 idem
" II	
Sérum de rat conservé 15 jours à la gla- cière Tube I	hémolyse après 1 heure 1/2 idem
" II	

Le tableau III nous montre aussi que l'alexine hémolytique peut se conserver plusieurs jours à la température du laboratoire; après 15 jours cependant elle est presque totalement détruite. Elle se conserve donc moins longtemps à 20° qu'à la glacière, ou comme nous l'avons démontré dans nos expériences antérieures, elle reste encore nettement active après 25 jours.

Un moyen très précieux de voir comment se comporte la substance vibrionicide, sous l'action directe de la lumière, c'est de mettre en contact pendant 2 heures en goutte pendante, parties égales de ce sérum insolé (après dilution préalable ou non) et d'une émulsion de vibrions de Koch sensibilisés, puis d'observer ces préparations sur porte-objets

enduits de bleu de méthylène phéniqué. Nous donnons en tableau IV le résumé d'expériences de ce genre.

Tableau IV.
Action de la lumière sur la substance vibrionicide du sérum de rat.

Mélanges	Phénomène de Pfeiffer
I. Sérum de rat insolé 8 jours — 1 anse Vibrions de Koch en émulsion — 1 anse	Boules très rares
II. Sérum de rat conservé 8 jours à l'obscurité à 20° — 1 anse Vibrions de Koch — 1 anse	forte proportion des boules
III. Sérum de rat insolé 8 jours dilué au $\frac{1}{10}$ Vibrions cholériques de Koch	pas de boules
IV. Sérum de rat conservé 8 jours à l'obscurité, dilué au $\frac{1}{10}$ Vibrions de Koch	boules assez nombreuses
V. Sérum de rat insolé 15 jours Vibrions de Koch	pas de boules
VI. Sérum de rat conservé 15 jours à 20° à l'obscurité Vibrions de Koch	boules très rares

Ainsi qu'on peut s'en rendre compte par l'examen du tableau IV, la substance vibrionicide est presque complètement détruite après 8 jours d'insolation. Les quelques boules que l'on rencontre dans un champ microscopique sont tellement rares que l'on ne peut parler du phénomène de Pfeiffer. — Au contraire par la conservation à l'obscurité, l'alexine vibrionicide reste pendant 8 jours capable de produire un phénomène de Pfeiffer très accusé; après 15 jours, cependant, dans les mêmes conditions, son activité semble à peu près totalement épuisée: comme on le voit, sa durée de stabilité marche de pair avec celle de l'alexine hémolytique.

Nous avons d'autre part conservé 18 heures à l'étuve à 37°, des préparations en gouttes pendantes, semblables aux mélanges I et II du tableau IV. — L'examen microscopique nous en a paru très intéressant.

Non seulement dans le mélange I, formé de vibrions de Koch et de sérum insolé 8 jours, les boules sont extrêmement rares, mais on peut constater que les vibrions, restés intacts en majorité, se sont multipliés assez activement. — On les voit ainsi former d'énormes amas dont les éléments sont disposés de façon à figurer des sortes de palissades que l'on doit réellement considérer comme de véritables colonies en voie de formation. C'est là, à notre avis, la meilleure preuve que la substance vibrionicide a été détruite par la lumière.

Au contraire dans le mélange II, formé de vibrions cholériques de Koch et de sérum conservé 8 jours dans l'obscurité à la température de 20°, on peut constater que non seulement les boules de Pfeiffer

sont en immense majorité, mais encore que les vibrions loin de s'être multipliés, commencent déjà à subir le début de la transformation granulaire.

En tout cas on ne remarque jamais de colonies naissantes en voie de prolifération comme dans le mélange I: c'est qu'à l'obscurité la substance vibrionicide est restée parfaitement active et a enrayé la vitalité et la prolifération vibrionienne.

d) Refroidissement à 0° centigrade. Nous avons conservé pendant 24 heures dans des godets creusés en pleins blocs de glace, du sérum de rat réparti dans une série de petits tubes stérilisés. D'autre part, nous avons préparé des émulsions en eau physiologique de cultures bactériennes et vibrionienne âgées de 24 heures et les avons placées également dans la glace pendant quelques heures.

Puis nous avons fait des mélanges (à raison de 5 gouttes de sérum pour 1 anse d'émulsion microbienne) que nous avons conservés à la température de la glace fondante et nous avons ensemencé des plaques de gélatine nutritive après 5 minutes, 6 heures, 24 heures.

Ainsi qu'on peut le voir au tableau V, la substance vibrionicide est complètement inactive à 0°.

Tableau V.
Action du refroidissement à 0° sur le sérum de rat.

Mélanges	Nombre de colonies après		
	5 minutes	6 heures	24 heures
I. Sérum de rat Vibrions de Koch } à 18°	∞	24	4
II. Sérum de rat Vibrions de Koch } à 0°	2860	∞	1260
III. Sérum de rat Charbon vaccin I } à 0°	{ 5882 3492	—	207 92
IV. Sérum de rat Charbon vaccin I } à 18°	2728	—	106

On pourrait à première vue mettre la réduction microbienne du mélange II (de 2860 à 1260) sur le compte d'une action microbicide à 0°. — En fait il n'en est rien: Cette diminution peu importante du nombre des colonies doit être rapportée à l'action de l'agglutinine vibrionienne spécifique dont nous avons démontré l'existence dans le sérum de rat. — Nous avons pu nous assurer en effet au moyen de préparations microscopiques que cette agglutinine vibrionienne reste active à 0° centigrade. Les mélanges faits avec du sérum de rat dilué au $\frac{1}{20}$ montraient à 0° des amas de vibrions cholériques agglutinés, mais par le moindre élément granulaire. Au contraire les témoins abandonnés à la température de 20° montraient une complète transformation en boules de Pfeiffer.

Pour ce qui est de l'action bactéricide, on peut constater à ce même tableau V que le sérum de rat se comporte de façon identique à 0° et à 18° (l'agglutination n'est pas en jeu ici, le bacille du charbon n'étant pas agglutiné par le sérum de rat).

En d'autres termes, la substance bactéricide ne paraît pas influencée par le refroidissement.

e) Antialexine. Dans notre précédent mémoire nous avons donné la preuve que le cobaye injecté de sérum de rat fournissait un anticorps spécifique contre l'alexine hémolytique et vibrionicide du rat et se montrait par contre complètement dépourvu d'antialexine contre la substance bactéricide.

f) Durée de conservation. Il résulte de nos expériences antérieures que la substance bactéricide se conserve pour ainsi dire indéfiniment (nos derniers essais concernaient du sérum recueilli depuis près d'un an); par contre, après une vingtaine de jours la substance hémolytique et vibrionicide a complètement disparu.

Que faut-il déduire des faits qui viennent d'être exposés?

Les substances hémolytique et vibrionicide possèdent toutes deux les propriétés caractéristiques des alexines. Elles sont détruites par le chauffage à 56° et par l'action de la lumière solaire; leur activité est suspendue à 0°; elles ne sont pas anéanties par la neutralisation du sérum; elles donnent naissance à un anticorps spécifique, à une antialexine; enfin ce sont des substances labiles.

Les substances hémolytique et vibrionicide doivent donc être considérées comme des alexines ou plutôt comme une seule et même alexine, car aucun fait ne nous permet de supposer qu'il s'agisse de deux substances distinctes; c'est du reste la thèse uniciste magistralement soutenue par Bordet dans ses mémoires sur les alexines en général.

Pour ce qui concerne la substance bactéricide pour la bactérie charbonneuse, nous avons pu constater qu'elle n'est pas détruite par l'action du chauffage à 56° ni par la lumière solaire; qu'elle agit encore très nettement quand on la soumet à la température de la glace fondante; qu'elle est paralysée par la neutralisation; qu'elle ne fournit pas d'antialexine; enfin qu'elle est extrêmement stable en ce sens qu'elle se conserve indéfiniment.

En un mot, les faits montrent que la substance bactéricide ne possède aucune des propriétés reconnues des alexines.

De plus, il convient de remarquer que nous avons constaté la présence de substance bactéricide dans l'humeur aqueuse du rat.

Or, jamais, à notre connaissance, aucun auteur n'a constaté la présence d'alexine dans l'humeur aqueuse d'aucune espèce animale.

Nous avons été amené à nous occuper de l'alcalinimétrie du sérum de rat par suite de cette circonstance que v. Lingelsheim¹⁾ et Fischer²⁾, se basant sur le fait que de l'eau physiologique (NaCl aq.; à 0,9%) additionnée de 0,045% de NaOH exerce une action microbicide vis-à-vis de la bactérie charbonneuse, et que la neutralisation d'un

1) Lingelsheim, Ueber die Bedeutung der Salze für die bakterizide Wirkung des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.)

2) Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 1903. p. 339.)

sérum bactéricide le rend inactif, semblent tomber d'accord que le pouvoir microbicide d'un sérum pour le charbon dépend du degré d'alcalinescence du liquide considéré.

Fischer même, plus radical que v. Lingelsheim, et généralisant prématurément à tous les microbes les faits constatés à propos du charbon, n'hésite pas à considérer les alexines comme des substances inexistantes et créées de toutes pièces par l'imagination des savants.

C'est là cependant une opinion qui, à notre avis, ne peut être défendue.

Si l'eau salée additionnée de NaOH tue le charbon, ce n'est pas par suite du taux de l'alcalinité, mais bien parce que la soude agit dans ce cas à la façon d'un véritable antiseptique.

J'en vois la preuve dans ce fait que le sérum du placenta humain et le sérum du cobaye que nous avons expérimentés présentaient une alcalinité correspondant respectivement à 0,553% de NaOH et à 0,319% de NaOH (nous avons employé pour ces dosages la méthode de l'alcalinimètre de Engel) c'est-à-dire 7 à 12 fois plus élevée que dans l'expérience de v. Lingelsheim, et cependant ni le sérum de cobaye, ni le sérum humain n'exercent d'action destructive sur la bactérie charbonneuse, ainsi que nous nous en sommes pleinement assuré.

C'est qu'en effet dans les sérums l'alcalinité n'est pas conditionnée par la présence de NaOH mais bien par d'autres sels alcalins.

D'autre part, le sérum de rat que nous avons examiné est de moitié moins alcalin (= 0,298% NaOH) que le sérum humain; de plus par le chauffage à 56°, nous avons constaté que son alcalinescence tombe dans la proportion d' $\frac{1}{4}$ et cependant il reste parfaitement bactéricide.

Tout ce que l'on peut donc avancer, en partant du fait que la neutralisation du sérum de rat le rend inactif vis-à-vis de la bactérie charbonneuse, c'est que la substance bactéricide semble devoir être considérée comme une base organique thermostable (elle n'est en effet décomposée qu'à 64°).

Quelle est la formule chimique de cette base. C'est un point qu'il est impossible de résoudre, étant donné que la substance bactéricide ne peut jamais être obtenue à l'état de solution pure.

C'est là d'ailleurs un point spécial qui n'a pas d'intérêt direct pour la thèse que nous soutenons.

Ce que nous estimons avoir une grande importance, c'est d'avoir fourni les preuves qu'il ne s'agit pas là d'une alexine.

Bien des auteurs s'occupant spécialement de l'origine des alexines ont recherché notamment si les substances microbicides des sérums existent également dans le plasma sanguin, afin de fournir un argument nouveau à la théorie humorale ou à la théorie phagocytaire de l'immunité naturelle. Il va de soi que les travaux de ces auteurs ne peuvent être pris en considération à cet égard, qui si la preuve est donnée que les substances microbicides sur lesquelles ils ont expérimenté sont réellement des alexines.

C'est ainsi notamment que la théorie phagocytaire de Metchnikoff a trouvé une base très puissante dans le fait que Gengou¹⁾ et tout récemment Herman²⁾ ont constaté que le plasma de rat, ou

1) Gengou, Origine des alexines bactéricides. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1901.)

2) Herman, Sur l'origine des alexines. (Bull. de l'acad. royale de méd. de Belgique. 1904.)

plutôt une humeur très analogue au plasma de rat, n'exerçait plus d'action bactéricide sur la bactérie charbonneuse. Les auteurs concluent que „l'alexine bactéricide“ des sérums n'existe pas dans les humeurs mais bien dans le protoplasme des leucocytes microphages.

Or nous avons vu au cours de ces recherches que la substance bactéricide du sérum de rat ne peut en aucune façon être considérée comme une alexine. Le beau mémoire de Gengou ainsi que le récent travail de Herman ne nous paraissent donc pas avoir résolu la question de la présence ou de l'absence des alexines dans le plasma, ni jeté une lumière décisive dans la problème de l'immunité naturelle.

Mai 1904.

Nachdruck verboten.

Einige Versuche über die Desinfektionswirkung des Saprol.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor Prof. v. Esmarch.)]

Von **J. Görbing.**

Mit 2 Figuren.

Seit den ersten Arbeiten über Saprol in den Jahren 1892/93 von Laser, Scheurlen, Keiler und Pfuhl¹⁾ ist dieses von der Firma Dr. H. Noerdlinger-Florsheim a. M. in den Handel gebrachte Desinfektionsmittel keiner erneuten Prüfung unterzogen worden, soweit ich aus den von mir durchgesehenen Zeitschriften habe ersehen können²⁾.

Eine erneute Wertbestimmung erschien deshalb sehr wünschenswert, zumal sich die früheren Untersuchungen auf „Saprol A und B“ beziehen, während die Firma jetzt eine größere Anzahl von Saprolpräparaten unter verschiedenen Bezeichnungen in den Handel bringt³⁾, die sämtlich noch einer eingehenden Prüfung harren.

Von den Eigenschaften des Saprol will ich nur die hier erwähnen, daß es auf Wasser schwimmt, da sein spezifisches Gewicht unter 1 liegt, und daß es langsam und permanent nach unten die desinfizierend wirkenden Kresolverbindungen abgibt, vornehmlich durch Auslaugen der Saprolschicht. Im übrigen verweise ich auf die oben angeführten Arbeiten und die Angaben in den Listen der Firma. Meine Versuche bezweckten zunächst nur eine kurze Nachprüfung der dem Saprol von der Firma nachgerühmten desinfizierenden Eigenschaften auf flüssige Substrate; meine speziellere Aufgabe war, zu ermitteln:

1) wie die Desinfektion verläuft, wenn das Saprol so vorsichtig über die zu desinfizierende Flüssigkeit geschichtet wird, daß Mischung durch tiefer einfallende Tropfen vermieden wird, und

1) Laser, Centralblatt f. Bakt. und Parasitenkunde. Bd. XII. 1892. p. 229 ff. — Scheurlen, Archiv f. Hygiene. Bd. XVIII. 1893. p. 35 ff.; Bd. XIX. p. 347 ff. — Keiler, Archiv f. Hygiene. Bd. XVIII. 1893. p. 57 ff. — Pfuhl, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. IV. 1893. p. 192 ff.

2) Centralblatt f. Bakt. und Parasitenkunde. — Baumgartens Jahresbericht. — Archiv f. Hygiene. — Uffelmanns Jahresbericht. — Hygienische Rundschau. — Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten.

3) Vergl. Offerten der Firma.

2) ob sich ein beträchtlicher Unterschied in der Schnelligkeit der Desinfektion bei verschiedener Schichthöhe herausstellt.

Daß ein solcher Unterschied besteht, darauf weisen bereits Keiler und Laser hin, ohne jedoch experimentell näher darauf einzugehen. Sämtliche von mir eingesehenen Arbeiten weichen in der Art der Probenahme aus der zu sterilisierenden Flüssigkeit von der meinigen ab, indem die Entnahme der Proben durch die Saproldecke hindurch geschah und hierdurch nie völlig vermieden werden konnte, daß unverdünntes Saprol, wenn auch nur in geringer Menge, mit auf das Nährsubstrat übertragen wurde.

Ich traf folgende Versuchsanordnung:

4 sogenannte Kühlerröhren von etwa 4 cm Durchmesser und 50 cm Länge waren an dem einen unteren Ende zu einem kurzen gedungenen Flaschenhals ausgezogen und mit einem gut schließenden Kautschukstopfen versehen, in dessen Bohrung ein kurz hakenförmig gebogenes, 3 mm weites Ablaufrohr eingeschoben war, die Krümmung nach oben, um dadurch ein Einfallen von niedersinkenden Keimen, die eventuell zu fehlerhaften Resultaten hätten veranlassen können, zu vermeiden. Das Ablaufrohr verband ich durch straffsitzenden Gummischlauch mit einem zu einer feinen Spitze ausgezogenen Röhrchen, so daß die zwischenliegende Kautschukverbindung eben Raum gewährte für exaktes Funktionieren des Schraubenquetschhahnes. Die Ausflußöffnung war so fein gewählt, daß das Ausströmen auch bei völlig geöffnetem Hahn in der Flüssigkeit der Röhre keine Wirbelung hervorrief (festgestellt an den in einem geschüttelten Alkoholwassergemisch aufsteigenden feinen Bläschen). Die so hergestellten Büretten beklebte ich nach der Sterilisation mit einem Centimetermaß auf Papier, von unten nach oben in Centimeter eingeteilt. Die eingefügte kleine Skizze I möge den Apparat deutlicher veranschaulichen.

Die Oeffnung des Ablaufrohres in der Flüssigkeit wurde durchgehends auf 2,5 cm eingestellt, daß also die Proben stets aus der Mitte der unteren 5 cm Flüssigkeitssäule entnommen wurden.

5 cm Höhe entsprachen hinreichend genau 60 ccm Flüssigkeit.

In meinen folgenden Versuchsreihen entspricht:

I:	10 cm hohe Flüssigkeitsschicht	=	120 ccm
II:	20 " "	=	240 "
III:	30 " "	=	360 "
IV:	40 " "	=	480 "
V:	1 m "	=	1 l.

Durch Anwendung dieser Bürettenform war also von vornherein ein Mitübertragen von reinem Saprol auf die Nährböden ausgeschlossen.

Als Bakterienmaterial für die Sterilisationsversuche diente *Bac. coli*-Reinkultur, um durch die Beweglichkeit des Bacillus eine möglichst gleiche Verteilung der Keime zu erzielen.

Nährflüssigkeit: Bouillon, 1 Teil verdünnt mit 4 Teilen Wasser.

Erste Probenahme nach der Impfung der Röhren mit *Bact. coli*-Bouillonkultur nach 24 Stunden Entwicklung bei Zimmertemperatur; der Inhalt der Büretten erschien nach dieser Zeit gleichmäßig getrübt.

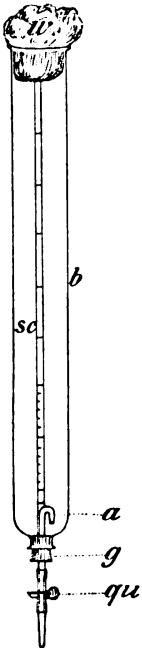


Fig. 1.

Sterilisation! des Ablaufrohres vor der Entnahme durch 5 Minuten langes Eintauchen in ein Becherglas mit kochendem Wasser bis an die untere Fläche des Stopfens; eine fühlbare Erwärmung des unteren Bürettenteiles durch den Wasserdampf fand dabei nicht statt.

Menge der vor der Probenahme abgelassenen Flüssigkeit: ca. 12 ccm.

Die nächst dem ausfließenden Kubikcentimeter wurden zur Aussaat verwendet und zwar entweder unverdünnt je 1 und 0,5 ccm, wenn wenig Kolonien zu erwarten waren oder nach mehr oder weniger starker Verdünnung mit Wasser im Decimalsystem. Die Berechnung der Anzahl der lebensfähigen Keime wurde stets auf 1 ccm ursprünglicher unverdünnter Flüssigkeit vorgenommen.

Kultur: Auf Gelatineplatten und in Bouillon, und zwar sofort nach Herstellung der gewünschten Verdünnung.

Die Zählung bzw. definitive Prüfung der Platten erfolgte nach 3mal 24 Stunden. Entwicklungstemperatur: Zimmertemperatur. Erfolgte bis zum 4. Tage keine Keimentwicklung, so nahm ich die Platten als steril an und impfte in den Fällen, wo unverdünnte Flüssigkeit zum Anlegen der Kultur genommen war, mit Bac. coli-Strichkultur, um etwaige Entwicklungs- bzw. Wachstumshemmung durch etwa mit eingebrachtes Saprol festzustellen. In jedem Falle zeigte sich bereits nach 24 Stunden kräftiges Wachstum; daher glaubte ich annehmen zu können, daß das in der Flüssigkeit gelöste Saprol nach der Verdünnung mit dem Nährsubstrat nicht entwicklungshemmend wirkte.

I. Versuch.

1 Proz. Saprol. Das Präparat für allgemeine Desinfektion.

15. Juli 1903. 1. Probenahme zur Feststellung der Keimzahl vor Zusatz des Saprol ergab als Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV
218 800 000	189 440 000	189 440 000	173 440 000.

16. Juli 1903. 2. Probenahme nach 24 Std. Saproleinwirkung. Aussaat nach starker Verdünnung.

Befund: Nach 3 Tagen von 1 ccm aus Röhre

I	II	III	IV
beide Platten mit verflüssigenden Keimen verunreinigt	steril	wie I	steril.

Anmerkung. Die Verunreinigung erfolgte jedenfalls durch mangelhafte Sterilisation des Ablaufrohres, weil bei dieser Probenahme der Auslauf nur 3 Minuten und nur bis zum Quetschhahn in siedendes Wasser getaucht worden war.

17. Juli 1903. 3. Probenahme nach 48 Std. Saproleinwirkung. Platten mit 0,5 und 1,0 ccm; von Röhre I und IV je 1 Oese unverdünnt zu je einer Platte verwendet.

Befund: Nach 24 Std. keine Keimentwicklung; nach 3 Tagen

I	II	III	IV
steril	steril	steril	steril.

18. Juli 1903. 4. Probenahme nach 72 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: je 1 Platte mit 1 Oese und 1 ccm unverdünnt.

Befund: Nach 2 Tagen keine Keimeinwirkung. Probeimpfung der Platten von Röhre III und IV mit Bac. coli: nach 24 Std. reichliche Entwicklung.

Ergebnis des I. Versuches:

Völlige Sterilisation mit 1 Proz. Saprol bis zu einer Tiefe von 40 cm nach 24 Std.

II. Versuch.

0,1 Proz. Saprol.

24. Juli 1903. 1. Probenahme zur Feststellung der Keimzahl vor Zusatz des Saprol. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV
220 800 000	192 000 000	179 800 000	181 700 000.

25. Juli 1903. 2. Probenahme nach 24 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 2. Decimale; davon Platten mit 0,5 und 1,0 ccm und 1 Oese unverdünnt.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Keimzahl (nach 3 Tagen, gezählt auf den Platten mit 0,5 ccm) in Röhre

I	II	III	IV
	schwer zählbar, weil sehr dicht; Resultat daher unsicher		
19 908 000	79 000 000	85 320 000	91 640 000.

26. Juli 1903. 3. Probenahme nach 48 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 1. Decimale; davon Platten mit 1 ccm und 1 Oese.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Keimzahl: Nach 3 Tagen, pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV
3 022 000	nicht zählbar.		

27. Juli 1903. 4. Probenahme nach 72 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 0,5 ccm unverdünnt.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV
ca. 900 000	nicht zählbar.		

28. Juli 1903. 5. Probenahme nach 96 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 0,5 ccm unverdünnt.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV
268 600	nicht zählbar.		

30. Juli 1903. 6. Probenahme aus Röhre IV. 5 Tage Saproleinwirkung. Verdünnung: 0,5 ccm unverdünnt.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Zählung nicht möglich.

31. Juli 1903. 7. Probenahme aus Röhre IV. 6 Tage Saproleinwirkung. Platte mit 0,5 ccm unverdünnt.

Befund: Nach 24 Std. reichliche Entwicklung. Zählung nicht möglich.

Ergebnis des II. Versuches:

0,1 Proz. Saprol genügt zur Sterilisation, selbst in der niedrigsten Schicht nach 4-tägiger Einwirkung, nicht¹⁾. Abfall der Keimzahl in Röhre

	I	II	III	IV
Keimzahl: 220 800 000	192 000 000	179 800 000	181 700 000	
24 Std. Saprol: 19 908 000	79 000 000	85 320 000	91 640 000	
48 " " 3 022 000	—	—	—	
72 " " 900 000	—	—	—	
96 " " 268 000	—	—	—	

Bemerkung zu Versuch I und II.

Beide Versuche sollten in erster Linie als Orientierungsversuche dienen; ich wiederhole dieselben unter IV und V in etwas veränderter Weise.

III. Versuch.

0,5 Proz. Saprol.

3. Aug. 1903. 1. Probenahme zur Feststellung der Keimzahl vor Zusatz des Saprol. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
193 920 000	204 800 000	170 880 000	175 360 000	217 600 000.

4. Aug. 1903. 2. Probenahme nach 24 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 3. Decimale; davon Platten mit 1 ccm.

Befund: Nach 2 Tagen I—IV keine Keimentwicklung; V eine Anzahl Keime. Keimzahl (erst am 11. Aug. gezählt) pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
steril			1 Schimmelpilz	18304000.

5. Aug. 1903. 3. Probenahme nach 48 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 2. Decimale; davon Platten mit 1 ccm; Bouillonröhrchen mit 1 Oese unverdünnt.

1) Weitere Prüfung von Röhre I mußte abgebrochen werden, weil die Oberfläche der Flüssigkeit bis auf das Ablaufröhrchen gesunken war.

Befund der Bouillon: Nach 24 Std. I—IV steril, V trübe. Befund der Platten: Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

	I	II	III	IV	V	
	steril			1 Schimmelpilz	600.	

6. Aug. 1903. 4. Probenahme nach 72 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 0,5 ccm unverdünnt; je 1 Platte.
Befund: Röhre

	I	II	III	IV	V
	steril				1 Keim (kein B. coli).

Impfung der Platten mit B. coli zur Prüfung auf Entwicklungshemmung. Nach 24 Std. reichliche Entwicklung.

Ergebnis des III. Versuches.

0,5 Proz. Saprol hat bis zu einer Tiefe von 40 cm nach 24 Std., bis zu einer Tiefe von 1 m nach 3 Tagen völlig sterilisiert.

Abfall der Keimzahl in Röhre V:

Keimzahl:	217 600 000
nach 24 Std. Saprol:	18 304 000
" 48 "	600
" 72 "	steril.

Vorbemerkung zu Versuch IV und V.

Versuch IV und V korrespondiert mit Versuch III und II. Jedoch wurde an Stelle des hakenförmigen Ablaufrohres ein gerades angewendet, um zu sehen, ob dadurch ein wesentlicher Unterschied in den Keimzahlen sich ergäbe.

IV. Versuch.

0,5 Proz. Saprol.

Röhre I: 20 ccm hohe Flüssigkeitsschicht, als Kontrollröhre zur Feststellung des Schwankens der Keimzahl bezw. des Senkens derselben, blieb ohne Zusatz von Saprol.

Es wuchsen pro Kubikcentimeter Aussaat nach:

24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
139 520 000	148 430 000	unzählig	250 240 000.

Demnach findet ohne Saprol eine Zunahme der Keimzahl statt, welche allerdings auch durch Niedersinken der Keime in die tieferen Schichten, aus denen die Proben entnommen wurden, bedingt sein kann.

14. Aug. 1903. 1. Probenahme zur Feststellung der Keimzahl vor Zusatz des Saprols. Aussaat unter starker Verdünnung.

Befund: Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

II	III	IV	V
186 880 000	196 480 000	118 400 000	172 216 000.

15. Aug. 1903. 2. Probenahme nach 24 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: Von Röhre II, III und IV 0,5 ccm unverdünnt, je 1 Platte; von Röhre V: 3. Decimale, 1 Platte mit 1 ccm.

Befund: Nach 3 Tagen II steril, III und IV eine Anzahl Keime, V noch ziemlich dicht. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

II	III	IV	V
steril	36	120	3 360 000.

16. Aug. 1903. 3. Probenahme nach 48 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: II, III, IV je 1 ccm unverdünnt, V 0,5 ccm unverdünnt.

Befund: Röhre

II	III	IV	V
steril			pro Kubikcentimeter 64 Keime.

17. Aug. 1903. 4. Probenahme nach 72 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 1,0 ccm unverdünnt, je 1 Platte; Bouillon: je 1 Oese.

Befund: Röhre

II	III	IV	V
steril			1 Fäulniskeim.

Bouillon: Nach 24 und 48 Std. steril.		Abfall der Keimzahl: Röhre			
		II	III	IV	V
	Keimzahl: 186 880 000	196 480 000	118 400 000	172 160 000	
nach 24 Std. Saprol:	steril	36	120	3 360 000	
" 48 " "	—	steril	steril	64	
" 72 " "	—	—	—	steril.	
Vergleichsversuch III. Abfall der Keimzahl: Röhre		II	III	IV	V
	Keimzahl: 204 800 000	170 880 000	175 360 000	217 600 000	
nach 24 Std. Saprol:	steril	steril	steril	18 304 000	
" 48 " "	—	—	—		
" 72 " "	—	—	—	steril.	

Ein für die Praxis wesentlicher Unterschied hat sich demnach zwischen beiden Versuchen nicht ergeben.

V. Versuch.

0,1 Proz. Saprol.

20. Aug. 1903. 1. Probenahme zur Feststellung der Keimzahl, nach 17 Std. Entwicklung. Verdünnung: 5. Decimale; davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
177 920 000	43 840 000	35 200 000	22 720 000	21 120 000.

21. Aug. 1903. 2. Probenahme nach 24 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 5. Decimale; davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
30 400 000	32 000 000	29 440 000	18 360 000	20 160 000.

22. Aug. 1903. 3. Probenahme nach 48 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 4. Decimale; davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
5 824 000	14 368 000	15 516 000	11 584 000	24 320 000.

23. Aug. 1903. 4. Probenahme nach 72 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 3. Decimale; davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
1 584 800	7 872 000	11 424 000	2 104 000	16 032 000.

24. Aug. 1903. 5. Probenahme nach 96 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: I und II 1. Decimale; III, IV und V 2. Decimale. Davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
357 870	3 133 140	5 130 000	1 785 600	14 220 000.

25. Aug. 1903. 6. Probenahme nach 120 Std. Saproleinwirkung. Verdünnung: 2. Decimale; davon Platten mit 1 ccm. Keimzahl pro Kubikcentimeter in Röhre

I	II	III	IV	V
1 880 200	4 226 500	4 281 800	861 100	9 164 000.

Ergebnis des V. Versuches (gerades Ablaufrohr).

Abfall der Keimzahl in Röhre

	I	II	III	IV	V
Keimzahl:	177 920 000	43 840 000	35 200 000	22 780 000	21 120 000
nach 24 Std. Saprol:	30 400 000	32 000 000	29 440 000	18 360 000	20 160 000
" 48 " "	5 824 000	14 368 000	15 516 000	11 584 000	24 320 000?
" 72 " "	1 548 800	7 872 000	11 424 000	2 104 000	16 032 000
" 96 " "	0 357 870	3 133 140	5 130 000	1 785 600	14 220 000
" 120 " "	? 1 880 200	? 1 226 500	4 281 800	861 100	9 164 000.

Vergleichsversuch II mit gebogenem Ablaufrohr.

Abfall der Keimzahl in Röhre

	I	II	III	IV
Keimzahl:	220 800 000	192 000 000	179 800 000	181 700 000
nach 24 Std. Saprol:	19 908 000	79 000 000	85 320 000	91 640 000
" 48 " "	3 022 000	—	—	—
" 72 " "	900 000	—	—	—
" 96 " "	268 000	—	—	—

Beide Versuche gestatten demnach nicht ohne weiteres einen Vergleich. Jedenfalls zeigt Versuch V, daß 0,1 Proz. Saprol zur Desinfektion unzureichend ist.

Am instruktivsten für das Verhältnis der Schnelligkeit der Sterilisation ist Versuch IV.

Aus diesem geht hervor, daß eine 1 m hohe Flüssigkeitsschicht mit 0,5 Proz. Saprol dreimal so lange Zeit, und eine Schicht von 40 und 30 cm Höhe die doppelte Zeit bis zur völligen Sterilisation braucht wie eine 20 cm hohe Schicht. Da aber in der Praxis die Einwirkungsdauer eine meist längere sein kann, z. B. in einer Abortgrube, die oft nach gänzlicher Füllung oder alle Viertel- oder Halbjahre entleert wird, so wird in diesem Falle vielleicht 0,5 Proz. Saprol zur völligen Desinfektion des Grubeninhaltes genügen. Allerdings gestatten die Versuche ohne weiteres keinen Vergleich mit einer Grube, die mit festen Fäkalmassen gefüllt ist, während dieselben für Tonnen oder Gruben, welche nur Urinzufuß haben oder abgeklärte Fäkalien aufnehmen, doch wertvolle Fingerzeige für die Anwendung von Saprol geben.

Die Saproldecke zeigte sich bei 0,5 und 1,0 Proz. nach Ablauf der Versuche noch intakt, bei 0,1 Proz. erschien mir dies zweifelhaft, doch habe ich dies nicht genauer untersucht. Dieses würde vielleicht für die Praxis Wert haben, insofern das Verhältnis der Oberfläche zum Raumgehalt bei der Ueberschichtung in Betracht gezogen werden müßte. Die Menge des einer Grube zuzusetzenden Saprol würde danach mit zu bemessen sein.

Eine Verschleppung von Infektionskeimen durch Insekten würde dann sicher auch bei offenen Gruben vermieden werden; sie ist außerdem noch dadurch so gut wie ausgeschlossen, genügenden Saprolzusatz vorausgesetzt, weil nach den Versuchen anzunehmen ist, daß die oberen Schichten sehr schnell sterilisiert werden.

In der Absicht, weitere Resultate zu gewinnen, welche einen unmittelbaren Schluß für die Praxis zulassen, wurde die Arbeit noch in folgender Richtung fortgesetzt.

Der Versuch, über den ich hier berichte, sollte sich möglichst der Praxis des Pissoirbetriebes nähern und zeigen, wie die Desinfektion verläuft bei täglich erneutem Zufluß bzw. beständigem Durchfluß sehr keimreicher Flüssigkeit. Ich dachte hierbei zunächst an den Betrieb eines Schulpissoirs, wo in bestimmten Zeiten größere Mengen Urin zufließen, während derselbe den größeren Teil des Tages mit dem Desinfektionsmittel in ungestörter Berührung bleibt.

Ich benutzte dazu den folgenden Apparat (s. p. 738).

Flasche I enthält die zu desinfizierende Flüssigkeit; ihr Inhalt beträgt 8 l; Rohr *a* dient als Luftrohr, Rohr *b* ist der Heber zum Ueberleiten der Flüssigkeit von I nach II, bei *f* mit Gummischlauch und Quetschhahn versehen. Röhre *b* ist im Stopfen der Flasche II leicht verschiebbar, so daß die Ausflußöffnung stets über der Saproldecke in gewünschter Höhe gehalten werden konnte, um so von vornherein ein Durchfallen der zu desinfizierenden Flüssigkeit durch das Saprol und damit zugleich eine leichte Durchmischung zu erzielen.

Der Raumgehalt von Flasche II beträgt 10 l. Rohr *c* ist der Ablaufheber nach dem Abflußkanal III. Die Einflußöffnung von *c* befindet sich dicht über dem Boden der Flasche; durch die so erzielte größtmögliche Entfernung der Ausflußöffnung von *b* und der Einflußöffnung von *c* erschien mir die möglichst ausgiebige Berührung des Zuflusses mit dem Desinfektionsmittel gewährleistet; *d* ist ein Gummischlauch, mit einem Abflußröhrchen versehen, an dessen Ende sich eine kleine Glasbirne *e* befindet; diese hat oben 3 kleine Abflußöffnungen,

durch schwarze Punkte angedeutet. Die Ausflußöffnung des Hebers *c* befindet sich dicht über dem Boden des mit Wasser gefüllten Gefäßchens *e*; letzteres kann durch eine Stativklammer in jeder gewünschten Höhe fixiert werden, Durch diese Anordnung war es möglich, die Flüssigkeit zwischen *e* und II in beliebiger Höhe im Gleichgewicht zu erhalten; die Entnahme der Probeflüssigkeit bereitet somit keine Schwierigkeit, da nur genügende Tiefstellung der Ablaufbirne *e* und Öffnen des Quetschhahnes notwendig ist; die Proben wurden im sterilen

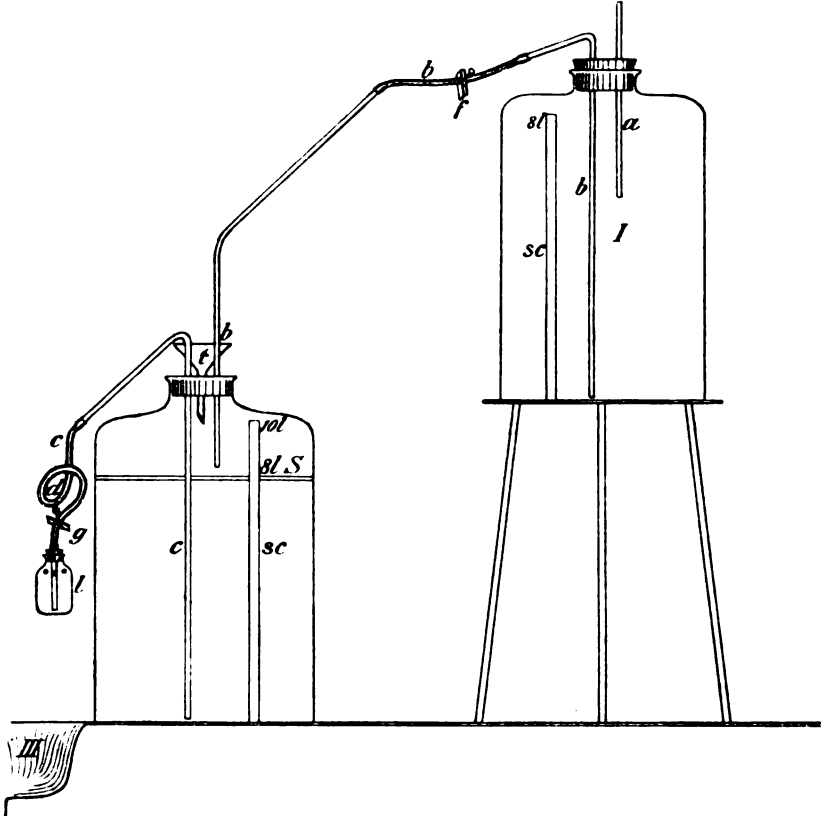


Fig. 2.

Reagensrohr durch Unterhalten unter *e* aufgefangen. Die Quetschhähne *f* und *g* dienen zur Regulierung der Zu- und Abflußgeschwindigkeit bzw. zum Verschließen des Apparates nach dem Abfließen der gewünschten Flüssigkeitsmenge. Trichter *t* diente zum Beschicken der Flasche II. *sc* sind Papierstreifen, abgeteilt in eine Skala für ganze und halbe Liter; *S* ist die auf 8 l Höhe eingestellte Saprodecke. Das Lumen der Röhren betrug ca. 4 mm.

Die Ablaufbirne wurde vor dem Probenehmen durch 5 Min. langes Eintauchen in ein Becherglas mit siedendem Wasser sterilisiert; die zu den Versuchen verwendete Platinöse war stets die gleiche, so daß stets die gleiche Menge Flüssigkeit zur Aussaat gelangte. Als Vorlauf be-

zeichne ich die vor dem Entnehmen der Probe abgelassene Flüssigkeit; bei etwa 250 ccm Vorlauf dürfte genügend Gewähr gegeben sein, eine einwandfreie Probe aus den unteren Schichten aus II zu erhalten; die Menge der Probeflüssigkeit selbst betrug 10—15 ccm.

Als Nährböden dienten Gelatine und Bouillon; die Prüfung der Kulturen erfolgte täglich. Entwicklungstemperatur: 22°. Die Bouillonröhrchen wurden, insbesondere wenn sich der Befund der korrespondierenden Platten und Röhrchen nicht deckte und bei 22° nach 3 Tagen keine Entwicklung eingetreten war, auch bei 37° kultiviert; das Ergebnis war jedoch nie ein anderes als bei 22°.

Zur Anstellung des Versuches wurden beide Flaschen ohne vorherige Sterilisation mit einer verdünnten Bouillon, 250,0 ccm in 8 l Wasser, gefüllt und mit je 3 Röhrchen 24 Stunden alter Bact. coli-Bouillonkultur geimpft. Nach 24-stündiger Entwicklung wurde nach 0,5 l Vorlauf zunächst eine Probe entnommen zur Feststellung der Keimzahl und gleich darauf der Inhalt der Flasche II mit 75 ccm = 1 Proz. Saprol für allgemeine Desinfektion überschichtet. Die Gelatineplatten zeigten nach 24 Stunden sehr reichliche Entwicklung, die Kolonien waren jedoch noch sehr klein; nach 48 Stunden war bereits weitgehende Verflüssigung eingetreten, so daß genaue Zählung nicht mehr möglich war; die Zählung an den noch festen Stellen der Platten ergab eine Keimzahl von ca. 15500 Keimen für die Oese Kulturflüssigkeit.

Bei jedem der folgenden Versuche wurden außer den Platten mit derselben Oese solche mit 0,1 ccm Probeflüssigkeit angelegt; zur Kontrolle der Plattenbefunde dienten mit der gleichen Menge angelegte Bouillonkulturen.

Nach 24-stündiger Einwirkung von 1 Proz. Saprol erwies sich die Flüssigkeit in II als steril. (Einige nach 3—4 Tagen aufgetretene Schimmelpilze waren wohl als nachträgliche Verunreinigungen der Platten anzusehen.)

Der Versuch wurde nun damit fortgesetzt, daß 2 l der 48 Stunden alten, stark trüben Kultur aus I in 43 Min. zugelassen wurden, dann wurden sofort aus II 2 Proben entnommen, nach 0,25 und 0,5 l Vorlauf (Ablaufzeit etwa 10 Min.). Die Bouillonkulturen blieben dauernd, auch bei 37°, steril. Dagegen zeigte die Gelatineplatte nach 0,25 l Vorlauf mit 0,1 ccm nach 4 Tagen 6, nach 5 Tagen 9 Keime, die Platte mit 1 Oese nach 5 Tagen 1 Schimmelpilz und 2 Keime. Die nach 0,5 l Vorlauf genommene Probe erwies sich als steril. Nach dem Befund der Bouillonröhrchen ist jedenfalls bei beiden Proben Sterilität anzunehmen. Demnach gelang es, 2 l sehr keimreicher Flüssigkeit in weniger als einer Stunde zu sterilisieren. Wahrscheinlich spielt bei diesem günstigen Ergebnis auch das Durchfließen der Kulturflüssigkeit aus I durch die Saproldecke eine Rolle.

Eine nach weiteren 24 Stunden entnommene Probe nach 0,25 l Vorlauf war steril. An diese Probenahme unmittelbar anschließend, wurde ein Durchströmungsversuch ausgeführt.

Im ganzen passierten 3 l der stark fauligen Flüssigkeit aus I die Flasche II.

Die 1. Probenahme erfolgte nach dem ersten Liter nach 38 Min., die 2. nach dem zweiten Liter nach 1 Stunde 52 Min., und die 3. nach dem dritten Liter nach 2 Stunden 47 Min. Die Kulturen wurden sofort nach jeder Probenahme angelegt, um eine längere Einwirkung des gelösten Saprol zu vermeiden.

Das Ergebnis war bei Bouillon- und Plattenkulturen übereinstimmend in allen Fällen Sterilität; auch nach 4 Tagen war keine Entwicklung eingetreten. (Nur das Bouillonröhrchen nach 1 l mit 0,1 ccm war nach 3 Tagen trübe). Es gelang somit auch bei permanentem Zufluß während der verhältnismäßig langen Zeit von annähernd 3 Stunden noch einen sterilen Ablauf zu erhalten.

Die nun folgenden Versuche unterscheiden sich von den vorhergehenden dadurch, daß es sich um jedesmal 24 Stunden lange Einwirkung des Saprol auf die von neuem zugelassene Flüssigkeit handelt; ich wollte sehen, wie weit für die angegebene Zeit der Einwirkungsdauer die Sterilisationskraft in II ausreicht. — Die Saproldecke war bei Beginn der Versuche noch intakt.

1) Zufluß: 1 l aus I. Probenahme aus II nach 0,5 und 1,0 l Vorlauf. Ergebnis: Beide Proben steril.

2) Zufluß: 1 l aus I. Probenahme aus II wie vorher. Ergebnis: Bouillon steril; die Platte mit 0,1 ccm nach 0,5 l Vorlauf zeigte nach 4 Tagen 3 Keime und 1 Schimmelpilz; alle übrigen Platten steril.

3) Zufluß: 1 l (das 8. und letzte) aus I. Probenahme wie vorher. Ergebnis: Das Bouillonröhrchen mit 0,1 ccm nach 1 l Vorlauf nach 3 Tagen trübe; die entsprechende Platte steril; alles übrige steril.

Es waren bisher also 7,5 l aus II und 8 l aus I = 15,5 l Flüssigkeit der Desinfektion unterworfen und völlig sterilisiert worden. (Die wenigen zur Entwicklung gekommenen Keime sind wohl auf zufällige Verunreinigungen zu beziehen.)

Abgelassen wurden nach Zusatz des Saprol im ganzen bisher 8 $\frac{1}{4}$ l. Zu dem übelriechenden Rest in Flasche I wurden nun 200 ccm Bouillon gegeben und nach 24 Stunden auf 8 l mit Wasser aufgefüllt.

4) Zufluß: 1 l (das 9.) aus I. Nach 24-stündiger Einwirkung in II Probenahme nach 0,5 und 1,0 l Vorlauf. Befund: Die Bouillonröhrchen mit 1 Oese blieben steril, die mit 0,1 ccm dagegen wurden nach 3 Tagen getrübt. Die Platten mit 1 Oese zeigten je 1 Keim; die Platte mit 0,1 ccm nach 0,5 l Vorlauf 4, nach 1,0 l Vorlauf 8 Keime. Die Grenze der Sterilisationskraft bei 24-stündiger Einwirkung ist somit nach dem 9. Liter aus I erreicht.

Um das Anwachsen der Keimzahl zu ermitteln, ließ ich noch 2 l aus I zufließen und nahm nach 24 Stunden noch 0,5 und 1,0 l Probe. Die Bouillonröhrchen waren nach 48 Stunden trübe; die Platten mit 1 Oese zeigten 23 bzw. 15 Keime, die mit 0,1 ccm 960 bzw. 830 Keime. Es hat also immer noch eine sehr starke Abnahme der Keimzahl stattgefunden.

Nach Zulauf des 12. Liters waren die Bouillonröhrchen bereits nach 24 Stunden trübe und zeigten nach 48 Stunden grüne Opalescenz und Fäulnisgeruch; die Platten enthielten pro 0,1 ccm ca. 30—35 000 Keime.

Zur Prüfung auf etwaige Entwicklungshemmung infolge zu hohen Saprolgehaltes der Nährböden wurde jedes steril gebliebene Bouillonröhrchen durch Eintauchen einer mit *Bact. coli* infizierten Nadel geimpft, ebenso sämtliche steril gebliebenen Platten mit einem Nadelstrich von *Bact. coli*.

Das Ergebnis ist dahin zusammenzufassen, daß nach 24 Stunden bei 22° in jedem Falle Trübung bzw. reichliche Entwicklung längs der Impfstriche eingetreten war.

Der in Flasche I stark auftretende Fäulnisgeruch war an den aus II entnommenen Proben erst bei dem 17. und 18. Liter schwach, bei dem

19. unverändert wahrzunehmen; bis dahin zeigten die Proben einen deutlichen, aber nicht unangenehmen Saprolgeruch. Die Saprolschicht erschien bei Beendigung des Versuches noch intakt, obgleich ein Teil beharfter Substanzen an der Gefäßwand beim Schwanken der Flüssigkeit fest hängen geblieben war. Eine Verschleppung von Infektionsstoffen wäre bei offener Tonne also nicht möglich, vorausgesetzt, daß das Einlaufrohr unter der Saprolschicht mündet.

Es wäre allerdings noch zu ermitteln, ob dann etwa die Desinfektionswirkung ungünstiger, was nicht wahrscheinlich, ist.

Aus meinen Versuchen glaube ich das Saprol als Desinfektionsmittel für Abwässer wohl empfehlen zu dürfen, jedoch ist die von der Firma angegebene Menge von 0,1 Proz. zur Sterilisation nicht ausreichend; unter 0,5 Proz. anzuwenden, würde nicht ratsam sein, wenn man wirklich schnelle und sichere Sterilisation erreichen will.

Es bleibt mir noch übrig, auch an dieser Stelle meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. von Esmarch und Herrn Prof. Dr. Reichenbach für die Unterstützung bei der vorliegenden kleinen Arbeit, Herrn Prof. Dr. von Esmarch insbesondere für die Uebertragung derselben an mich aufs wärmste zu danken.

Nachdruck verboten.

Berichtigung zu der Arbeit von Lipschütz in Bd. XXXV. No. 6 dieser Zeitschrift.

Von Prof. R. Stern in Breslau.

Am Schlusse seiner in der Ueberschrift zitierten Arbeit über die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis beschäftigt sich Herr Lipschütz mit Beobachtungen, die ich in einem im vorigen Jahre veröffentlichten Vortrage¹⁾ kurz erwähnt habe und die inzwischen von meinen Assistenten Dr. Lubowski und Steinberg²⁾ ausführlich veröffentlicht worden sind.

Lipschütz sagt: „Der spezifische Charakter der Agglutination erleidet auch durch einen in letzter Zeit von Stern mitgeteilten Fall von Beeinflussung von Typhusbacillen durch ein Proteus-Immenserum keinen Abbruch.“

Da dieser Satz unsere Beobachtungen ungenau und unvollständig wiedergibt, so sehe ich mich zu einer Richtigstellung veranlaßt; dies um so mehr, als sowohl mein Vortrag wie die oben erwähnte ausführliche Arbeit in klinischen Zeitschriften erschienen sind.

Wie in meinem Vortrage erwähnt, bildete den Ausgangspunkt der hier berührten Untersuchungen ein Fall von otogener Pyämie, dessen Serum Typhusbacillen bis zu 80facher Verdünnung (mikroskopische Beobachtung nach 2 Stunden) agglutinierte. Ich lasse nun wörtlich den in Betracht kommenden Abschnitt meines Vortrages folgen:

„Die bakteriologische Untersuchung post mortem ergab, daß bei der

1) Ueber den Wert der Agglutination für die Diagnose des Abdominaltyphus. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 30 u. 31.)

2) Ueber Agglutination von Typhusbacillen bei Proteus- und Staphylokokkeninfektion. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX. 1904.)

pyämischen Allgemeininfektion Staphylokokken und Streptokokken beteiligt waren. Aus dem Ohreiter konnte noch während des Lebens eine Proteus-Art isoliert werden, welche von dem Blutserum des Kranken noch in 80facher Verdünnung agglutiniert wurde. Mit dieser Proteus-Art stellten auf meine Veranlassung die Herren Dr. Lubowski und Steinberg Versuche darüber an, ob sich im Tierexperiment eine Mitagglutination des Typhusbacillus erzielen ließ. Diese Versuche fielen positiv aus. Die Höhe der bei verschiedenen Tieren (Kaninchen) erreichten Agglutinationswirkung gegenüber dem Typhusbacillus war recht verschieden, doch ließ sich mitunter ein Wert von A_2 bis über 1000 erreichen¹⁾. Aus diesen Versuchen, die auch mit einem zweiten Proteus-Stamm positiv ausgefallen sind, geht hervor, daß eine Infektion, die nicht durch einen zur Typhus-Coli-Gruppe gehörigen Mikroorganismus hervorgerufen wird, zu einer Agglutinationswirkung des Blutserums gegenüber Typhusbacillen führen kann, die bis vor kurzem allgemein als beweisend für die Diagnose einer Typhusinfektion angesehen wurde.

Auch durch Injektion von Staphylokokkenkulturen ließ sich bei mehreren Versuchstieren eine deutliche agglutinierende Wirkung des Serums gegenüber Typhusbacillen hervorrufen. Diese Versuche werden von den genannten Herren demnächst ausführlich mitgeteilt werden.“

Nicht also auf Grund der Beobachtungen an „einem Proteus-Immuneserum“ — wie Lipschütz angibt — sondern auf Grund einer Reihe von experimentellen Untersuchungen bin ich zu dem in dem oben gesperrt gedruckten Satze enthaltenen Ergebnisse gelangt. Diese Untersuchungen sind inzwischen in der — gleichzeitig mit der Mitteilung von Lipschütz erschienenen — Arbeit von Lubowski und Steinberg, auf die ich l. c. ausdrücklich verwiesen hatte, mitgeteilt. Hier finden auch die weiteren Bemerkungen, die Lipschütz an seinen oben zitierten Satz knüpft, ihre Erledigung. Nur möchte ich bei dieser Gelegenheit noch betonen, daß ich die Mitagglutination des Typhusbacillus bei Staphylokokken- und Proteus-Infektion keineswegs für etwas Konstantes halte. Beim Menschen können möglicherweise derartige Fälle selten sein, und auch im Tierexperiment war es vielleicht nur ein glücklicher Zufall, daß die Mehrzahl der von Lubowski und Steinberg benutzten Versuchstiere positiv reagierte. Aber selbst wenn weitere Untersuchungen ergeben sollten, daß es sich dabei nur um relativ seltene Vorkommnisse handelt, so haben gerade diese wegen ihrer nahen Beziehung zu der klinischen Verwertung der sogenannten Gruber-Widalschen Reaktion besondere Bedeutung.

1) A_2 bedeutet die stärkste Verdünnung des Serums, in welcher dieses bei mikroskopischer Beobachtung nach 2-stündiger Einwirkung eben noch die Bildung kleinster Häufchen verursacht.

Nachdruck verboten.

Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut Wien (Vorstand:
Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. B. Lipschütz.

Trotzdem wir im Menschenserumagar einen ausgezeichneten Nährboden für die Gonokokkenzüchtung besitzen, besteht wegen der Schwierigkeit in der Gewinnung des Nährmaterials in vielen Laboratorien das Bedürfnis, den Neisserschen Coccus auf einem leicht beschaffbaren und jederzeit leicht herstellbaren Nährboden züchten zu können; denn auch die Gewinnung der als Ersatz für das menschliche Serum angegebenen Flüssigkeiten (Hydrokeleninhalt, Aszitesflüssigkeit etc.) und tierischen Sera ist für zahlreiche Institute mit Schwierigkeiten verbunden. Andere für die Gonokokkenzüchtung angegebene Nährböden, wie der Harnagar Fingers, der mit Benutzung eiweißhaltigen Harnes hergestellte Nährboden Hammers, der Pfeiffersche Blutagar und die Angaben von v. Schrötter und Winkler, Kiebitz-eiweiß zur Züchtung zu verwenden, haben zum Teil keine allgemeine Anerkennung gefunden, zum Teil sich als praktisch wenig geeignet erwiesen. Auf Grund der von Wertheim, von Finger, Ghon und Schlagenhauer beim Studium des Gonococcus ermittelten Tatsache, daß die Eiweißkörper des Serums von größter Bedeutung für die Züchtung seien, suchte man dann mit Hilfe verschiedener im Handel vorkommender Eiweißpräparate geeignete Gonokokkennährböden herzustellen; allein die in dieser Richtung vorgenommenen Versuche von Finger, Ghon und Schlagenhauer und von Steinschneider haben zu keinem praktisch brauchbaren Resultat geführt.

Den Anlaß zur vorliegenden Arbeit bot der beim Studium der Gonokokkennährböden gezogene Schluß, daß es auf die Kombination zweier Faktoren — Zusatz einer eiweißhaltigen Flüssigkeit zum Agar und Einhalten einer bestimmten Reaktion — bei der Züchtung des Gonococcus wesentlich ankommt, während jeder der genannten Faktoren allein nicht wachstumsfördernd wirkt. Namentlich ist die Bedeutung der Reaktion des Gonokokkennährbodens — mit Ausnahme der Thalmannschen Arbeit — bis jetzt viel zu wenig berücksichtigt worden.

Um nun einen leicht beschaffbaren Gonokokkennährboden herzustellen, erschien es mir am einfachsten, ein im Handel in trockener Form vorkommendes geeignetes Eiweißpräparat ausfindig zu machen. Letzteres müßte drei Bedingungen erfüllen, leicht erhaltlich zu sein, im Wasser löslich und bei der zwecks Sterilisierung vorzunehmenden Erhitzung nicht zu gerinnen. Nach Durchprüfung einer Anzahl von Eiweißpräparaten tierischen und pflanzlichen Ursprunges habe ich für den verfolgten Zweck ein aus Hühnereiern hergestelltes Präparat, welches im Handel den Namen „Albumin aus Eiern pulv. subt.“ führt (bezogen von Merck) als am besten geeignet befunden. Auf die bei meinen Versuchen der Gonokokkenzüchtung bei Verwendung verschiedener tierischer und pflanzlicher Eiweißlösungen festgestellten biologisch nicht uninteressanten Resultate kann hier nicht eingegangen werden.

Nachdem in zahlreichen Versuchen festgestellt werden konnte, daß eine 2-proz. Lösung des genannten Präparates sich besonders geeignet erweist, war es noch notwendig, auf die Reaktion des Nährbodens genauer einzugehen. In der Literatur sind die Angaben über die Reaktion der Gonokokkennährböden nicht sehr zahlreich und auch nicht bei allen Autoren gleichlautend, wobei ferner noch der Umstand in Betracht kommt, daß für die Prüfung der Reaktion nicht stets derselbe Indikator verwendet wurde, ja bei vielen Autoren von einem solchen überhaupt nicht die Rede ist. Nach Finger, Ghon und Schlagenhauer ist der Gonococcus gegen einen bedeutenden Alkaleszenzgrad des Nährbodens empfindlich, gedeiht hingegen vorzüglich auf sauren Nährböden, wobei die Reaktion stets mit Lackmuspapier festgestellt wurde. Nach Thalmann hingegen sind lackmussaure und lackmusneutrale Reaktion dem Gonokokkenwachstum hinderlich, es steigt vielmehr letzteres bei lackmusalkalischer oder phenolphthaleinsaurer Reaktion bis zum Optimum an und sinkt dann wieder, um bei erreichter Phenolphthaleinneutralität ganz auszubleiben. Endlich mißt Wildbolz der Reaktion des Nährbodens überhaupt keine große Bedeutung bei; dabei begeht Wildbolz den Fehler, den Thalmannschen Agar zwar als ein „durch seine saure Reaktion von den sonst allgemein üblichen Nährböden abweichendes Kulturmedium“ anzuführen, ohne aber auch hinzuzufügen, daß Thalmann zur Titrierung seines Nährbodens sich ausschließlich des Phenolphthaleins bedient, so daß der Thalmannsche Agar zwar phenolphthaleinsauer, aber lackmusalkalisch ist.

Meine eigenen Versuche beschäftigten sich zunächst mit der Untersuchung der mir für die Gonokokkenzüchtung zur Verfügung gestandenen menschlichen Flüssigkeiten, welche, wie besonders hervorgehoben werden kann, ein vorzügliches Gonokokkenwachstum gestatteten. Sie waren deutlich lackmusalkalisch, wobei bei der Prüfung mit neutraler Lackmuskintur die zur Neutralisation von 100 ccm der Flüssigkeit notwendige $\frac{1}{10}$ Normalsalzsäure bei der einen Hydrokelenflüssigkeit 31 ccm, bei einer zweiten 25 ccm betrug. Daß die alkalische Reaktion von Wichtigkeit ist, konnte ferner in folgender Weise festgestellt werden: Wurden die mit der Hydrokelenflüssigkeit im Verhältnis 1 : 3 gemengten Agarröhrchen mit steigenden Mengen einer sterilen 5-proz. Lösung von saurem phosphorsaurem Natron versetzt, so daß der Alkaleszenzgrad immer mehr und mehr abgestumpft, die Reaktion lackmusneutral und schließlich lackmussaure wurde, so gestaltete sich auch das Gonokokkenwachstum immer spärlicher und geringer, um schließlich bei deutlich lackmussaurem Reaktion ganz zu sistieren, während die Kontrollplatten üppiges Wachstum zeigten.

Dieses Verhalten der Reaktion beim Gonokokkenwachstum erwies sich für den verfolgten Zweck sehr vorteilhaft; denn während angesäuerte Eiweißlösungen beim Erhitzen gerinnen, hatten wir in der alkalischen 2-proz. Lösung des Eiereiweißes eine eiweißhaltige Flüssigkeit gefunden, die auch bei der Sterilisierung in strömendem Dampf nicht koaguliert und die beide für die Gonokokkenzüchtung wesentlich in Betracht kommenden Faktoren in sich vereinigt.

Für die Herstellung des Nährbodens läßt sich folgender Vorgang empfehlen: In einem größeren Glaskolben wird eine 2-proz. Lösung des Eiereiweißes in Leitungswasser bereitet, mit 20 ccm einer $\frac{1}{10}$ Normal-lauge pro 100 ccm der Lösung versetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen und während dieser Zeit einigemal tüchtig durchgeschüttelt. Es wird dann

durch ein Faltenfilter filtriert, in Erlenmeyer-Kolben in Mengen von 30—50 ccm verfüllt und die Sterilisierung am einfachsten durch eine 2—3mal über der Asbestplatte an demselben Tage oder in zwei aufeinander folgenden Tagen vorgenommene und bis zum Sieden fortgesetzte Erhitzung bewerkstelligt. Die Eiereiweißlösung kann auch in strömendem Dampf sterilisiert werden; es erfolgt jedoch bei längerer Sterilisierung eine geringe Abnahme der Alkaleszenz. Die gewonnene Nährflüssigkeit ist farblos bis hellgelb, klar und durchsichtig und reagiert bei der „Tüpfelreaktion“ auf empfindlichem Lackmuspapier deutlich alkalisch, wobei bemerkt werden soll, daß die Lösung des Eiereiweißes in Leitungswasser ohne Laugenzusatz nur ganz minimal alkalisch oder neutral reagiert. Sie zeigt ferner deutliche Eiweißreaktionen (Kochprobe, Ferrocyanalprobe, Biuretreaktion).

Wird die beschriebene Eiereiweißlösung dem verflüssigten und wieder abgekühlten Agar (1 Proz. Agar, $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl, 1 Proz. Pepton) oder gewöhnlicher Bouillon im Verhältnis von 1 Teil der Lösung zu 2 oder 3 Teilen des Agars zugesetzt, so stellt der „Eiereiweißagar“ oder die „Eiereiweißbouillon“ einen für die Gonokokkenzüchtung gut geeigneten Nährboden dar. Derselbe besitzt den Vorteil, jederzeit und leicht herstellbar zu sein und ist vollkommen klar und durchsichtig, gestattet daher vorzüglich das Mikroskopieren der Kolonien.

Mit dem beschriebenen Nährboden habe ich zunächst 35 Fälle von akuter und subakuter Urethritis untersucht (darunter 2 weibliche Fälle). Ohne das Orificium urethrae zu desinfizieren, wurde, nach Wegwischen des ersten Eitertropfens, eine kleine dünne, an ihrem Ende spatelartig umgebogene Platinöse in die Fossa navicularis eingeführt und das entnommene Sekret nach der Ausstrichmethode Fingers auf in Petri-Schalen erstarrtem Eiereiweißagar gestrichen. Stets trachtete ich, mit einem frisch bereiteten und feuchten Eiereiweißagar zu arbeiten, da die Weichheit und der Wassergehalt des Nährbodens erfahrungsgemäß das Gonokokkenwachstum besonders begünstigen. In sämtlichen Fällen ist das kulturelle Gonokokkenwachstum gelungen.

Des weiteren wurde in mehreren Fällen von Urethritis posterior subacuta und chronica der Harn zum Gonokokkennachweis herangezogen. Der Vorgang gestaltete sich dann in der Weise, daß der in sterilen Eprovetten aufgefangene trübe Harn zentrifugiert und nach Abheben der oberen klaren Flüssigkeit das Sediment reichlich zum Streichen benutzt wurde; oder es wurden in Fällen mit klarem Harn die in diesem befindlichen „Tripperfäden“ zur Züchtung verwendet. Es ist mir bei derartigen Harnuntersuchungen öfters gelungen, unter zahlreichen Verunreinigungen typische Gonokokkenkolonien herauszufinden und durch deren Abimpfen Reinkulturen zu erhalten.

Endlich habe ich mit dem beschriebenen Nährboden Versuche vorgenommen, welche den Zweck hatten, künstliche Gemische von Gonokokken und andere Mikroorganismen in ihre Bestandteile zu zerlegen. In einem Versuche wurden Gonokokken mit Staphylokokken, in einem zweiten mit Staphylokokken und Colibacillen gemengt und in dem Eiereiweißagar zu Platten gegossen. Nach 24 und deutlicher nach 48 Stunden konnte man bei mikroskopischer Betrachtung der Platten leicht unter den großen und opaken Kolonien der beigemengten Keime die kleinen hellgelben und transparenten, mit einem zentralen Kern und zahlreichen körnigen Massen versehenen Gonokokkenkolonien herausfinden.

Die Identifizierung der gezüchteten Stämme als echte Gonokokkenkulturen wurde zunächst durch den färberischen Nachweis ungleich großer, gramnegativer Diplokokken und durch das Vorhandensein zahlreicher Degenerations- und Involutionsformen vorgenommen. Bemerkenswert sei an dieser Stelle, daß die Degenerationsformen auf dem Eiweißagar nach 48 Stunden noch recht spärlich, wohl aber bei 72 Stunden und älteren Kulturen reichlich zu beobachten sind, was vielleicht mit der relativen Langsamkeit des Wachstums auf diesem Nährboden zusammenhängt. Ferner wurden die Stämme sowohl auf Hydrokelenagar als auch auf gewöhnlichen Agar übertragen. Auf ersterem war das Wachstum ein sehr üppiges und die angefertigten Präparate zeigten vollkommen typische Bilder. Was das Wachstum auf gewöhnlichem Agar betrifft, so war bei der Mehrzahl meiner Stämme kein Wachstum zu bemerken, während bei mehreren Kulturen bei reichlicher Materialübertragung auf dem Agar mäßig zahlreiche Kolonien aufgingen, die dann auch in mehreren Generationen auf letzterem fortgezüchtet werden konnten. In 10 Fällen habe ich die Züchtung auf gewöhnlichem Agar direkt aus dem Trippereiter versucht. In 7 Fällen blieben die reichlich mit Gonokokken-eiter bestrichenen Platten steril, in dreien gingen mäßig zahlreiche Gonokokkenkolonien auf. Meine Erfahrungen über Gonokokkenwachstum auf dem gewöhnlichen Agar schließen sich also den Arbeiten von Wertheim, von Nikolaysen, Wildbolz, Urbahn und Bärmann an und zeigen, daß die aus verschiedenen Individuen herausgezüchteten Stämme bezüglich ihres Wachstums auf künstlichen Nährböden gewisse Differenzen aufweisen. An dieser Stelle möge auch eines Falles von *Urethritis acuta* mit äußerst reichlichem Gonokokkengehalt erwähnt werden, der ein Analogon des von Wildbolz aus der Klinik von Jadassohn mitgeteilten Falles abgibt; es gelang mir nämlich nicht, in dem genannten Falle, auch auf einem Hydrokelenagar, der, wie Kontrollversuche erwiesen, sonst ein vorzügliches Gonokokkenwachstum gestattete, eine Kultur zu erzielen; die Platte blieb vollkommen steril.

Aehnlich wie Urbahn und Wildbolz habe auch ich Unterschiede beim Wachstum verschiedener Gonokokkenstämme *in vitro* feststellen können. In zahlreichen Fällen zeigte nach 24 und 48 Stunden der mit Gonokokkeneiter bestrichene Eiweißagar ein deutliches und ausgesprochenes Wachstum, indem ein aus zahlreichen kleinen, tautropfenförmigen Kolonien zusammengesetztes grauweißes Band zu sehen war, welches bei mikroskopischer Betrachtung zahlreiche, dicht nebeneinander stehende und sich gegenseitig abplattende, nicht konfluierende, hellgelbe, transparente Kolonien mit leicht unregelmäßigem Rand und mit zentral gelagerten gelblichen körnigen Massen zeigt. Während dieses Bild meistens wiederkehrte, besaß in einer geringen Anzahl von Fällen die erste Generation ein anderes Aussehen. An Stelle des deutlichen Wachstums und grauweißen Farbtones sah man hier einen sehr zarten, feinen Belag, der oft erst nach 48 Stunden deutlich zu bemerken war, während nach den ersten 24 Stunden bei der Besichtigung mit freiem Auge es fast den Anschein hatte, als sei die Platte steril geblieben. Allerdings zeigte die mikroskopische Untersuchung auch schon nach dieser Zeit zahlreiche im Eiter sitzende, kleine, hellgelbe Kolonien, die noch keine weiteren Details darboten. Ob klinische Momente und welche vielleicht die Ursache für die Differenzen im Wachstum abgeben, darauf konnte nicht eingegangen werden.

Im Vergleiche mit auf Hydrokelenagar gewachsenen Gonokokkenskulturen hatten die auf Eiereiweißagar gezüchteten Stämme einen mehr trockenen und weißlichen Farbenton, auch stand die Ueppigkeit des Wachstums auf letzterem Nährboden etwas zurück.

Die weitere Uebertragung der auf Eiereiweißagar gewonnenen Kulturen ist mir, stets auf demselben Nährboden, in sehr zahlreichen Generationen (bis zur 35. wurde in mehrtägigen Intervallen systematisch überimpft) gelungen. Platten habe ich noch am 8. und 9. Tage überimpfbar gefunden; nach dieser Zeit waren sie, stets bei 37° aufbewahrt, schon eingetrocknet, und das Mikroskop zeigte fast ausschließlich keine Farbe mehr aufnehmende Degenerationsformen. Schützte man jedoch die Kulturen vor Eintrocknung, so gelang die Uebertragung in der Regel noch nach 15 und 20 Tagen. In einfacher Weise konnte die Eintrocknung vermieden werden, indem die Stämme auf schief erstarrtem und reichliches Kondenswasser enthaltendem Eiereiweißagar überimpft und die Röhrchen mit Gummikappen versehen wurden. Das Wachstum ist schon nach 24 Stunden sichtbar, das Kondenswasser trübt sich und enthält nach einigen Tagen mehrere bröckelige Massen.

Der *Gonococcus* gedeiht ferner auch in der „Eiereiweißbouillon“. Nach 48 Stunden ist die Kultur leicht trübe, und einige Tropfen derselben, auf Eiereiweißagar übertragen, genügen, um auf dem festen Nährboden wieder eine Kultur zu erhalten.

Nachdem die beschriebene Eiereiweißlösung sich nur für die Gonokokkenzüchtung geeignet erwiesen hat, liegt die Annahme nahe, daß sie vielleicht auch für andere bakteriologische Zwecke, wie bei Versuchen, welche eine Steigerung der Virulenz von Mikroorganismen oder eine Vermehrung der Hämolysebildung mancher Bakterien bezwecken, an Stelle der Sera wird benutzt werden können — eine Annahme, die natürlich erst durch daraufhin gerichtete experimentelle Untersuchungen wird begründet werden müssen.

Es wurde in dieser Arbeit versucht, einen leicht herstellbaren eiweißhaltigen Gonokokkennährboden anzugeben. Die theoretisch sehr interessante Frage, welche Fraktion der Eiweißkörper am meisten bei der Gonokokkenzüchtung in Betracht kommt, resp. welches Abbauprodukt der Eiweißkörper noch wachstumsfördernd wirkt, wird in von anderer Seite im Institute auszuführenden Untersuchungen erörtert werden.

Wien, im April 1904.

Literatur.

- Wertheim, Arch. f. Gynäk. Bd. XLII.
 Steinschneider, Berl. klin. Wochenschr. 1893 u. 1897.
 Finger, Ghon u. Schlagsenhauser, Arch. f. Dermat. Bd. XXVIII.
 Hammer, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
 v. Schrötter u. Winkler, Referat im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. p. 679.
 Thalmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII.
 Wildbolz, Arch. f. Dermat. Bd. LXIV.
 Urbahn, Arch. f. Augenheilk. Bd. XLIV. Ergänzungsheft.
 Bärmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII.

Nachdruck verboten.

Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren.

Vorläufige Mitteilung.

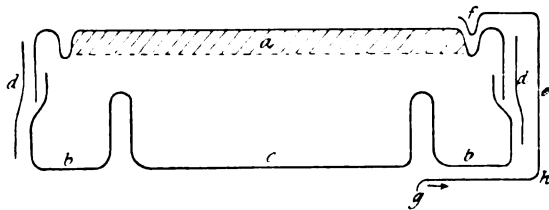
Von Dr. med. **Dreuw** in Hamburg-Altona.

Mit 1 Figur.

In der biologischen Abteilung des ärztlichen Vereins Hamburg, Sitzung vom 22. Dez. 1903, demonstrierte ich eine Glaskammer zur anaëroben Kultur mit folgenden Eigenschaften:

- 1) Handlichkeit und Kleinheit der Kammer,
- 2) Einfachheit der Ausführung anaërober Kulturen ohne weitere Nebenapparate,
- 3) direkte und fortwährende mikroskopische Beobachtung der Kolonien, ohne Störung des Wachstums,
- 4) die Anwendung der unteren Schale zu einer neuen Kultur durch Aufsetzen eines anderen Deckels,
- 5) die Verwendung der Kammer wie eine gewöhnliche Petri-Schale zur aëroben Züchtung, wobei sowohl die obere als untere Schale zur Aufnahme des Nährbodens dient,
- 6) der vollständig bakterienfreie Abschluß gegen die äußere Luft,
- 7) die Verwendung des Apparates ohne weiteres als Plautsche Kammer und zur Züchtung von TBC,
- 8) die leichte Sterilisierbarkeit wie bei jeder Petri-Schale.

Nachdem die Kammer im Laboratorium von Dr. Plaut in Hamburg durch letzteren, im hygienischen Institut Hamburg (Prof. Dunbar) durch Dr. Kister und in Dr. Unnas bakteriologischem Laboratorium durch mich auf ihre Brauchbarkeit geprüft, übergebe ich dieselbe nunmehr der Oeffentlichkeit. Bisher wurde durch dieselbe mit Erfolg durch das Plattenverfahren anaërob gezüchtet Tetanus, Rauschbrand und malignes Oedem auf 1—2-proz. Traubenzuckeragar. Die Einrichtung der Kammer illustriert folgendes Bild.



Querschnitt.

Die Kammer besteht aus zwei gläsernen runden Teilen von der Größe einer Petri-Schale, dem Deckel *a* und der unteren Schale *c*. Bei umgekehrter Schale gießt man in die Mitte des Deckels (*a*) den geimpften Nährboden. Nach dem Erkalten stellt man die Kammer aufrecht und gießt in den ringförmigen Behälter *b* konzentrierte Pyrogallussäurelösung, in welche man dann 2—4 erbsengroße Stückchen Kali caustic. fusum legt. Der Deckel wird darauf sofort mit der unteren Schale luftdicht gegen außen verbunden durch einen auf der Außenseite luftdicht gummierten Heftpflasterstreifen (Paraplast), der fest dem seit-

lichen Rande der Kammer angedrückt werden muß. Eventuell wird noch darüber ein Gummiring gezogen in der Weise, daß eine Person denselben gegen den Seitenrand der auf dem Tischboden ruhenden Kammer drückt, während eine zweite den Ring mit den beiden Zeigefingern über die Schale hinüberzieht. Die mikroskopische Beobachtung der Kolonien bei *a* geschieht durch den gläsernen Teil *c* hindurch. Abgesehen von der anaëroben Züchtung bewährt sich die Kammer zur Kultur von TBC und als Plautsche Kammer zur Kultur von Trichophytie in situ (2 Objektträger nebeneinander!). Sie ist die bequemste Einrichtung einer kleinen feuchten Kammer, wenn man in den Ring *b* Wasser gießt. Der Gummiring kann auch allein zum Abschluß dienen, wirkt jedoch nicht so sicher wie Paraplast oder Paraplast + Gummiring. Bei Bakterien, welche viel Gas erzeugen, bringt man zweckmäßig die vier beigegebenen Klammern (*e*) an, damit der Gasdruck nicht den Deckel in die Höhe hebt. Die Klammern (*e*) werden entweder über dem Paraplaststreifen oder über dem Paraplaststreifen + Gummiring in der Weise angelegt, daß die Vertiefung *f* in die identische Vertiefung des Deckels gelegt wird, worauf bei *h* ein Druck mit dem Daumen ausgeübt wird. Gelöst wird die Klammer, indem man mit dem rechten Daumen bei *g* in der Richtung des Pfeiles drückt.

Die Kammer ist zu beziehen von Carl Zeiss, Jena, optische Werkstätte, Zweigniederlassung Hamburg, Rathausmarkt 8, ebenfalls die Utensilien: Paraplaststreifen, Gummiring, Klammern und Kalistückchen.

Nachdruck verboten.

Eine Verbesserung des Reichelschen Bakterienfilters.

[Aus dem kgl. kroat.-slavon. bakteriologischen Landesinstitute in Križevci (Kroatien).]

Von Prof. **Ferdinand Kern**, Vorstand des Institutes.

Mit 1 Figur.

Der Reichelsche Bakterienfiltrierapparat dürfte wohl allbekannt sein. Er besteht aus einem Glasgefäße *A* mit zwei Ansätzen, von welchen der eine nahe dem Boden des Sammelgefäßes, der andere über der Mitte desselben mündet, und aus einem Tonfilter *B*, welches in das Sammelgefäß eingesenkt wird.

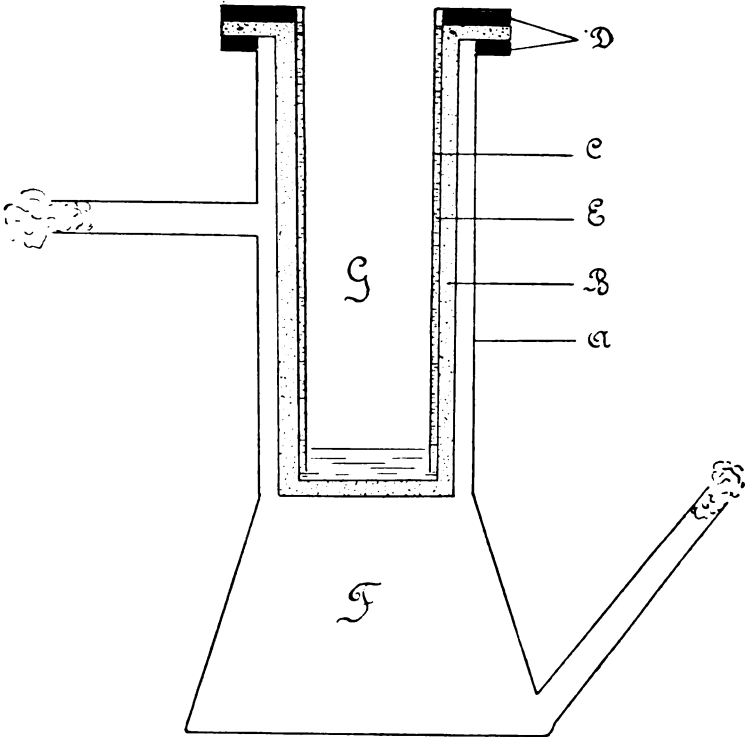
Die Dichtung zwischen Thonfilter und Sammelgefäß geschieht entweder mittels eines Gummi- oder Asbestringes *D* oder aber sind die Berührungsfächen des Sammelglases und des Filters gut geschliffen, so daß sie ohne allem gut schließen. Gewöhnlich gibt man über die Dichtung noch einen elastischen Ueberzug, welcher aus einer oben durchlochten Gummihäube besteht.

Das untere Rohr des Sammelgefäßes dient zur Probeentnahme und Uebergießen der filtrierten Flüssigkeit; es wird beim Filtrieren mit einem Gummirohre versehen, welches mittels eines Quetschhahnes hermetisch verschlossen wird.

Den oberen Ansatz des Sammelgefäßes versieht man mit einem Wappropf und verbindet ihn mit der Luftpumpe.

Die Vorteile, welche dieser Filtrierapparat bietet, sind unter anderem,

daß selbiger, besonders wenn die Dichtung ohne Gummiring geschieht, leicht im Heißluftofen sterilisiert, aber auch mechanisch gut gereinigt werden kann, dabei eine ziemlich grose filtrierende Fläche besitzt und überhaupt leicht gehandhabt werden kann. Wie aber jedes Bakterienfilter, hat er auch seine Nachteile. So z. B. ist es schwierig, mit ihm kleine Quantitäten zu filtrieren, Quantitäten, welche nicht das ganze Lumen des Tonfilters ausfüllen, da in diesem Falle, sobald im Sammelgefäße behufs Filtrieren ein Vakuum erzeugt wird, durch die Poren der unbedeckten Tonfilterfläche Luft durchstreicht, wodurch das Vakuum ununterbrochen verringert bezw. dessen Steigerung erschwert und die



Tätigkeit des Filters herabgesetzt oder aufgehoben wird. Andererseits filtriert kleine Mengen nur ein Bruchteil des Filters, die nicht bedeckte Oberfläche ist unnütz, ja, wie gesagt, nachteilig. Ein Uebel ist es auch, daß sich dieser Filtrierapparat nicht, wie manche andere, selbst füllt, sondern daß man stets nachfüllen muß.

Diesen Uebeln habe ich getrachtet nach Möglichkeit abzuhefen und so den Apparat brauchbarer zu machen.

Ich habe ihn mit einer Einsatzröhre versehen, wie dies an nebenstehender Abbildung unter *C* zu sehen ist,

Diese Röhre *C* kann aus Glas oder Metall konstruiert sein und hat an dem einen Ende eine Scheibe, welche sich nicht auf das Lumen erstreckt, ähnlich der Scheibe des Filters. Sie hat einen kleineren Durchmesser als das Lumen des Filters, so daß sie in letzteres bequem ein-

geschoben werden kann und noch 1—2 mm freien Raumes zwischen Filter und Glasröhre übrig bleiben. Beide Enden des Einsatzes sind offen. Versenkt man ihn in die vertikale Röhre *B* des Filters, so kommt seine nun horizontal stehende Scheibe auf die horizontale Scheibe des Tonfilters zu liegen. Die Länge des Glaseinsatzes ist kleiner als jene des Filters innen gemessen, so daß bei der obigen Lage das untere Ende des Einsatzes 2—3 mm über den Filterboden zu stehen kommt.

Um zwischen den horizontalen Scheiben des Filters und des Einsatzes die nötige Dichtung zu erlangen, ist es notwendig, zwischen beide Scheiben eine elastische Einlage, etwa einen Gummiring *D*, zu legen und beide mittels Schrauben gegeneinanderzupressen.

Ueber den oberen Rand des Sammelglases und den horizontalen Scheiben des Filters und des Einsatzes gebe man keine gemeinschaftliche Gummikappe, besonders aber versuche man nicht, damit die oben erwähnten Schrauben zu ersetzen, da sonst unter ihr die zu filtrierende Flüssigkeit aus dem Filter über seine horizontale Scheibe, ohne filtriert zu werden, in das Sammelgefäß gelangen könnte.

Was ist nun mit dem Gebrauche des Glaseinsatzes alles erreicht?

- 1) Daß das Filter auch kleine Mengen von Flüssigkeiten mit seiner ganzen Fläche filtriert, gerade so als wäre es vollgefüllt;
- 2) kann die Luft beim Filtrieren von kleineren Flüssigkeitsmengen, welche nicht das ganze Filter ausfüllen, nicht durch das Tonfilter durchziehen und wird auch das Vakuum dadurch nicht geschwächt und
- 3) kann das Nachfüllen von Flüssigkeit, welche man filtrieren will, auch in größeren Intervallen ohne größeren Nachteil besorgt werden.

Namentlich: Sobald im Sammelgefäße *A* durch das Auspumpen der Luft ein Vakuum erzeugt wird, bestrebt sich der äußere Luftdruck, dieses Vakuum auszugleichen und es wird demzufolge die Luft vom Zwischenraume *E*, welcher sich zwischen Glaseinsatz und Tonfilter befindet, durch die Poren des Filters in das Sammelgefäß *A* durchziehen. An die Stelle dieser Luft kommt aber aus *G* die zu filtrierende Flüssigkeit nach, so daß nun das Durchziehen von Luft aufgehoben ist und das ganze Filter bloß Flüssigkeit filtriert.

Steht die Flüssigkeit im Filter *G* bereits so tief, daß sie vom Glaseinsatz nicht mehr erreicht wird, d. h. deckt sie nur noch 3—4 mm hoch den Boden des Filters, dann erst hört die Wirkung des Einsatzes auf, denn die Luft bekommt Zutritt zum Zwischenraume *E*.

Beim Gebrauche des Reichelschen Filters zum Filtrieren größerer Flüssigkeitsmengen ohne die soeben beschriebene Einsatzröhre kann man sich das ununterbrochene Nachfüllen auf folgende Weise ersparen:

Man fülle die zu filtrierende Flüssigkeit in einen Kochkolben oder eine andere Flasche und verschließe deren Hals mit einem einmal durchlochtem Stöpsel. In den durchlochtem Stöpsel gebe man ein 5 bis 6 cm langes und im Lumen ca. 6 mm dickes Glasrohr. Die so adjustierte Flasche drehe man jetzt um, und zwar so, daß das vom Stöpsel herausragende Glasrohr in die Oeffnung des Filters, der Boden der Flasche nach oben zu stehen kommt. Es beginnt nun durch die Glasröhre die Luft in die Flasche einzudringen und Flüssigkeit sich aus der Flasche in das Filter zu entleeren. Hat sich das Filter so weit gefüllt, daß die Glasröhre mit ihr in Berührung kommt, so ist das Eindringen der Luft durch dieselbe, gleichzeitig aber auch das Ausfließen der Flüssigkeit

sigkeit aus der Flasche in den Filter aufgehoben. Sobald sich so viel Flüssigkeit abfiltriert, daß die Glasröhre der Flasche nicht in sie taucht, füllt sich automatisch Flüssigkeit aus der Flasche in das Filter. Die Flasche kann mittels eines Bunsengestelles leicht über dem Filter befestigt werden.

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.

- Arrhenius, Svante** et **Madsen, Thorvald**, Toxines et antitoxines. Le poison diphtérique, p. 612.
- Anjessky, Aladár**, Eine pestähnliche Rattenseuche, verursacht von einem Kapselbacillus der Friedländer-Gruppe, p. 603.
- Bosc, F. J.**, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). II, p. 630.
- Dreuw**, Vereinfachtes anaerobes Plattenverfahren, p. 748.
- Görbing, J.**, Einige Versuche über die Desinfektionswirkung des Saprol, p. 731.
- Jancsó, Nikolaus**, Zur Frage der Infektion der Anopheles claviger mit Malaria-parasiten bei niederer Temperatur, p. 624.
- Jogichess, M.**, Zur Frage über die Agglutination der Streptokokken durch Serum Scharlachkranker, p. 692.
- Kern, Ferdinand**, Eine Verbesserung des Reichelschen Bakterienfilters, p. 749.
- Kraus, B.** und **Joachim, J.**, Ueber Beziehungen der präzipitogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien, p. 662.
- Lichtenheld, Georg**, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. (Forts.), p. 651.
- Lipschütz, B.**, Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden, p. 743.
- Lutz, Adolf** und **Splendore, Alfonso**, Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien, p. 645.
- Weisser, Max**, Kritische Bemerkungen zur Arrhenius'schen Agglutinin-Verteilungsformel, p. 671.
- Pirene, Yvo**, Sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal, p. 723.
- Rodet, A., Lagriffoul et Wahby, Aly**, La toxine soluble du bacille d'Eberth, p. 593.
- de' Rossi, Gino**, Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien, p. 685.
- Sartirana, Silvio**, Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera, p. 718.
- Scheller, Robert**, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. II. Die Agglutinine der Typhusimmunsers und ihre Beziehungen zur agglutinogenen Typhusbacillenleibessubstanz, p. 694.
- Stern, E.**, Berichtigung zu der Arbeit von Lipschütz in Bd. XXXV. No. 6 dieser Zeitschrift, p. 741.
- Weil, Edmund**, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination, p. 677.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXXVI enthaltenen Arbeiten.

- Arrhenius, S. et Madsen, Th.**, Toxines et antitoxines. Le poison diphtérique. 612
- Aujeszký, A.**, Beiträge zur Pathogenität der tuberkelbacillenähnlichen säurefesten Stäbchen. 415
- , Eine pestähnliche Rattenseuche, verursacht von einem Kapselbacillus der Friedländergruppe. 603
- Bail, O.**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. 266, 397
- Bassenge, R. und Mayer, M.**, Zur Toxin-gewinnung aus gefrorenen Typhusbacillen. 332
- Bertarelli, E.**, Ueber Beziehungen zwischen Virulenzmodifikationen des Wutvirus und Veränderungen der Negrischen Körperchen. 42
- siehe **Heller, O.**
- Bose, F. J.**, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). I. Introduction générale à l'étude des maladies bryocytiques. 487
- , Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). II. La maladie vaccinale et son parasite. 630
- Carlini, A.**, Apparat für intravenöse Injektion größerer Mengen infektiöser Kultur. 318
- della Cella, F. A.**, Ueber das Verhalten tuberkulöser Tiere gegen die subkutane Infektion mit Tuberkelbacillen. 12
- Cohn, E.**, Ein Beitrag zum Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen. 369
- De Blasi, D.**, Vergleichendes Studium einiger Stämme des *B. dysentericum*. 161
- Dreuw**, Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren. 748
- Dschunkowsky, E. und Kupzls, J.**, Ueber die Bereitung des trockenen Antirinderpestserums. 91
- Dunbar und Kister, J.**, Zur bakteriologischen Diagnose bei pestkranken Ratten. 127
- Feistmantel**, Die Tuberkulinreaktion. 282, 406
- Freyer, M.**, Das Immunserum der Kuhpockenlympe. 272
- Fricke, E.**, Zur Jodreaktion einiger Lepthothrixarten der Mundhöhle, der Speiseröhre und des Magens. 555
- Galli-Valerio, B.**, Études bactériologiques. *Corynebacterium vaccinae*. *Bacterium diphtheriae avium*. *Bacterium candidus*. 465
- Ghedini, G.**, Ueber die toxische Wirkung einiger Organextrakte. Anatomische und histologische Beobachtungen. 33, 224
- Ghon, A. und Sachs, M.**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. II. Zur Aetiologie des Gasbrandes. 1, 178
- Görbing, J.**, Einige Versuche über die Desinfektionswirkung des Saprol. 731
- Grimme, A.**, Einige Bemerkungen zu neueren Arbeiten über die Morphologie des Milzbrandbacillus. 352
- Heller, O. und Bertarelli, E.**, Beitrag zur Frage der Bildung toxischer Substanzen durch *Lyssavirus*. 216
- v. Hibler, E.**, Ueber einen Fall von Pyämie mit Soorinfektion. 505
- Hinterberger, A.**, Färbungen agglutinierter Typhusbacillen mit Silbernitrat. 457
- , Geißeln bei einer 5 Monate alten Proteuskultur und einer 10½ Monate alten Kultur von *Micrococcus agilis*. 480
- Hirschbruch und Schwer**, Bemerkungen über feste Nährböden zum Zwecke der Cholera-diagnose. 144
- Howe, F. jr.**, Notes on the *Bacillus coli*. 484
- Jacqué, L.**, A propos de l'agent de la fermentation butyrique (unbeweglicher Buttersäurebacillus) par Schattenfroh et Grassberger. 28
- , A propos des procédés de Hesse et de Spengler, pour la culture du bacille de la tuberculose. 461
- , Le procédé de Cambier pour la recherche du bacille typhique. 300
- v. Jaksch, R. und Rau, R.**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im fließenden Moldauwasser im Weichbilde und im Leitungswasser von Prag. 584
- Jancsó, N.**, Zur Frage der Infektion der *Anopheles claviger* mit Malaria-parasiten bei niedriger Temperatur. 624
- v. Janleki, C.**, Bemerkung über Cestoden ohne Genitalporus. 222
- Joachim, J.** siehe **Kraus, R.**
- Jogichess, M.**, Zur Frage über die Agglutination der Streptokokken durch Serum Scharlachkranker. 692
- Kern, F.**, Eine Verbesserung des Reichel-schen Bakterienfilters. 749

- Kister, J. und Schmidt, P.**, Zur Diagnose der Rattenpest. 454
— siehe Dunbar.
- Kloumann, F.**, Beitrag zur Frage der Wirkung des Koffeins auf Typhus- und Colibakterien. 312
- Konrádl, D.**, Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser. 203
—, Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen. 151
- Kraus, R. und Joachim, J.**, Ueber Beziehungen der präzipitino-genen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. 662
- Krause, P.**, Ein Beitrag zur Kenntnis von der Dauer des Bestehens der Widalschen Reaktion nach überstandenen Typhus. 121
- Kupziz, J.** siehe Dschunkowsky, E.
- Lagriffoul** siehe Rodet, A.
- Lewandowsky, F.**, Die Pseudodiphtheriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen. 336. 412
- Liechtenheld, G.**, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. 546. 651
- Lingard, A.**, Can the „Piroplasma bigeminum“ find a habitat in the human subject? 214
- v. Linstow, O.**, Neue Helminthen aus Westafrika. 379
- Lipschütz, B.**, Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden. 743
- Lutz, A. und Splendore, A.**, Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien. 645
- Luzzani, L.**, Nachweisung des spezifischen Parasiten in einem Falle von Tollwut beim Menschen. 510
- Madsen, Th.** siehe Arrhenius, S.
— et Walbum, L., Toxines et antitoxines. De la ricine et de l'antiricine. 242
- Marx, E.**, Die Bestimmung kleinster Mengen Diphtherieantitoxins. 141
- Mayer, M.** siehe Bassenge, R.
- Michalski, J.**, Bacillus conjunctivitis sub-tiliformis. 212
- Nelsser, M.**, Kritische Bemerkungen zur Arrheniusschen Agglutininverteilungsformel. 671
- Petkowsitch, D. S.**, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. 304
- Petterson, A.**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. 71
- Pirrenne, Y.**, Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal. 256
—, Sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal. 723
- Prettner, M.**, Ueber Serumgewinnung gegen Schweineseuche und Schweinepest. 94
- v. Rätz, St.**, Dibotriocephalus latus im Hunde. 384
- Rau, R.** siehe v. Jaksch, R.
- Rautenberg, E.**, Zur Bakteriologie der Ruhr. 368
- Rettger, L. F.**, A contribution to the study of pathogenic yeasts. 519
- Rickards, B. R.**, A simple method of cultivating anaërobic bacteria. 557
- Rieke, H.**, Beiträge zur Frage der Arteinheit der Streptokokken. 321
- Rodet, A., Lagriffoul et Wahby, A.**, La toxine soluble du bacille d'Eberth. 935
- de Rossi, G.**, Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien. 685
- Ruata, G. Q.**, Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des Bacillus von Eberth vom Colibacillus. 576
- Růžička, V.**, Berichtigung zu dem Artikel des Herrn Dr. D. Ottolenghi: „Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus.“ 354
- Sachs, M.** siehe Ghon, A.
- Sanfellece, F.**, Neue Untersuchungen über die Aetiologie der malignen Geschwülste. 528
—, Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix- (Actinomyces-)Arten. 355
- Sartirana, S.**, Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera. 718
- Scheller, R.**, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine. 427
—, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. II. Die Agglutinine der Typhusimmunsere und ihre Beziehungen zur agglutinogenen Typhusbacillen-leibessubstanz. 694
- Schmidt, P.** siehe Kister, J.
- Schneider, P.**, Oxyuris vermicularis im Beckenperitoneum eingekapselt. 550
- Schwer** siehe Hirschbruch.
- Spangaro, S.**, Ueber die bakterientötende Kraft des reinen Blutes — des plasmareinen Blutes — des Plasmas und des Serums normaler und immunisierter Tauben gegen den Milzbrandbacillus. 83
- Splendore, A.** siehe Lutz, A.
- Stäubli, C.**, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten. Experimentelle Untersuchungen an Meer-schweinchen. 291. 441
- Stern, R.**, Berichtigung zu der Arbeit von Lipschütz in Bd. XXXV. No. 6 dieser Zeitschrift. 741
- Stühlern, V. R.**, Ueber die Bedeutung des Bacillus pneumoniae Friedländer als Erreger von Pneumonie. 493

- Tiberti, N.**, Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids. 62
- Turró, R.**, Beiträge zum Studium der natürlichen Immunität. 103
- Wahby, A.** siehe **Rodet, A.**
- Walbum, L.** siehe **Madsen, Th.**
- Weigert, R.**, Ueber das Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden. Ein Beitrag zur Frage der natürlichen Immunität. 112
- Weil, E.**, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination. 677
- Weiss, H.**, Zur Kenntnis der Darmflora. 13
- Zlatogoroff, S. J.**, Ueber die bakteriologische Diagnose der Pest in Kadavern. 559
- Zschokke, F.**, Die Darmcestoden der amerikanischen Beuteltiere. 51

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Actinomyces albus*, Kultur. 358
- *flavus*, Kultur. 359
- , künstliche Impfung. 364
- *violaceus*, Kultur. 360
- Agglutination durch Inokulation von Bacillenkörpern und Geißeln. 690
- , Einfluß der Temperatur. 677
- , Geißeluntersuchung. 689
- , Verhältnis zur Beweglichkeit der Bakterien. 685
- Agglutininverteilungsformel von Arrhenius, Kritik. 671
- Anaeroben, einfaches Plattenverfahren. 748
- , Kulturmethode. 557
- Anopheles claviger*, Infektion mit Malaria-parasiten bei niederer Temperatur. 624
- Antirinderpestserum trockenes, Bereitung. 91
- Bacillen säurefeste, Pathogenität. 415
- Bacillus conjunctivitis subtiliformis* Mich., Eigenschaften. 212
- *pneumoniae* als Erreger von Pneumonie. 493
- *pyocyaneus*, Wachstum auf wasserarmen Nährböden. 116
- *subtilis*, Agglutination und Begeißelung. 689
- Bacterium candidum* Galli-Val., Kultur. 470
- *coli commune*, Agglutination und Begeißelung. 689
- — —, Gas- und Farbstoffproduktion. 484
- — —, Verhalten gegen Saprol. 732
- — —, Wachstum auf wasserarmen Nährböden. 116
- *diphtheriae avium*, Kultur. 467
- *dysentericum*, Eigenschaften. 161
- *vulgare*, Geißeln bei alten Kulturen. 480
- — —, Wachstum auf wasserarmen Nährböden. 116
- Bakterien pathogene, Lebensdauer in Wasser. 203
- Bakterienfilter nach Reichel, Verbesserung. 749
- Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden. 112
- Buttersäurebacillus unbeweglicher, Isolierung und Kultur. 28
- Blutfarbstoff, Zersetzung durch *Streptococcus longus*. 325
- Bertia edulis*. 60
- *obesa*. 60
- *sarasinorum*. 60
- Beuteltiere amerikanische, Darmcestoden. 51
- Cestoden, Mangel eines Genitalporus. 222
- Cholera diagnose, Gebrauch fester Nährböden. 144
- Colibacillen, Verhalten gegen Koffein. 312
- Corynebacterium commune* Lewand. 472
- *conjunctivae* Lewand. 473
- *diphtheriae*. 472
- *pyogenes* Lewand. 473
- *vaccinae* Galli-Val., Kultur. 465
- Darm, Bakterienflora. 13
- Darmbakterien acidophile bei Erwachsenen. 15
- Dibothriocephalus latus* beim Hund. 384
- Diphtherieantitoxin, Bestimmung kleinster Mengen. 141
- Diphtheriebacillen, Literatur. 473
- , Toxinuntersuchungen. 612
- , Wachstum auf wasserarmen Nährböden. 116
- Dysenteriebacillen, Agglutination. 167
- , Artberechtigung. 173
- , Eigenschaften auf den verschiedenen Nährböden. 162
- , Pathogenität. 170
- Echinokokken der Pferde. 658
- *fertile* der Rinder. 653
- — der Schafe. 657
- — der Schweine. 655
- , Lokalisation. 547. 651
- *sterile* der Rinder. 654
- — der Schafe. 657
- — der Schweine. 656
- , Verhältnis der sterilen zu den fertilen bei Haustieren. 659
- , Vorkommen. 546
- Echinorhynchus cestodiformis* v. Linst. in *Erinaceus albiventris*. 380
- Fett in Bakterienzellen, Reaktionen. 353

Gasbrand, Aetiologie.	1.	178	Ovarienextrakt, Wirkung auf Tiere.	39
Geschwülste maligne, Aetiologie.		528	Oviserum zur Steigerung der natürlichen Immunität.	106
Gonococcus Neisseri, neuer Nährboden.		743	Oxyuris vermicularis im Beckenperitoneum.	550
Hefe von Klein, Vergleich mit anderen pathogenen Hefen.		369	Pankreasextrakt, Wirkung auf Tiere.	37
Hefen pathogene, Kultur und Eigenschaften.		519	Pest, bakteriologische Diagnose in Kadavern.	559
Hodenextrakt, Wirkung auf Tiere.	41.	224	— in Ratten, bakteriologische Diagnose.	127
Hundswut beim Menschen, Parasitenbefund.		540	Pestbacillen in Ratten, Eigenschaften.	454
—, Beziehungen zwischen Virulenz und Negrissen Körperchen.		42	Physaloptera dispar v. Linst. in Erinaceus albiventris.	380
—, Bildung toxischer Substanzen.		216	Piroplasma bigeminum beim Menschen.	214
Immunsierung mit Bakterien.		662	Plasmodium vaccinae, Untersuchungen.	630
— mit Bakterienfiltraten.		668	Pseudodiphtheriebacillen, Literatur.	473
— mit erwärmten Bakterienfiltraten.		669	—, Systematik.	336. 472
Immunität natürliche, künstliche Steigerung.		105	Pyämie mit Soorinfektion.	505
— —, Theorie.		103	Rattenserum, bakterizide Wirkung.	257
Injektion intravenöse, Apparat.		318	—, Eigenschaften der verschiedenen Alexine.	265
Jodreaktion bei Leptothrixarten.		555	—, Natur der mikrobiziden Substanzen.	388
Kapselbacillus als Ursache einer Ratten-seuche.		603	—, Verschiedenheit der Alexine.	259
Koffein, Wirkung auf Coli- und Typhusbacillen.		312	—, Verteilung der mikrobiziden Substanzen.	392
Krankheiten durch Protozoen, Allgemeines.		487	Rattenseuche pestähnliche.	603
Leptothrixarten, Jodreaktion.		555	Ricin, giftige Wirkung.	249
Linstowia brasiliensis.		60	— und Antiricin, Agglutination.	243
— echidnae.		60	Ruhr, Bakteriologie.	368
— Jheringi Zschokke, Beschreibung.		52	Saccharomyces canis Sanfel, Kultur und Impfungen.	532
— lata, Gattungszugehörigkeit.		57	Saprol, desinfizierende Wirkung.	731
— Semoni.		60	Schilddrüsenextrakt, Wirkung auf Tiere.	227
Malariaparasiten, Uebergang auf Anopheles clavigeri bei niedriger Temperatur.		624	Schweinepest, Gewinnung des Immunserrums.	94
Micrococcus agilis, Geißeln bei alten Kulturen.		480	Schweineseuche, Gewinnung des Immunserrums.	94
Milzbrand, künstliche Immunität beim Kaninchen.		266. 397	Seifen, bakterizide Wirkung.	151
Milzbrandbacillen, Fettgehalt.		352	Sera cytotoxische, Versuche.	718
—, immunisierende Wirkung des darin enthaltenen Nucleoproteids.		62	Staphylococcus pyogenes albus, Wachstum auf wasserarmen Nährböden.	116
—, Lebensdauer in Wasser.		206	— — aureus, Lebensdauer in Wasser.	208
—, Prioritätsfrage.		354	— — —, Wachstum auf wasserarmen Nährböden.	116
—, Verhalten gegen das Blut normaler und immunisierter Tauben.		83	Streptococcus longus, Zersetzung des Blutfarbstoffes.	325
Milzbrandimmunität, künstliche des Hundes.		71	Streptokokken, Agglutination durch das Serum Scharlachkranker.	692
Milzsaft, bakteriolytische Wirkung.		109	—, Arteinheit.	321
Monizia festiva.		60	Taenia abortiva v. Linst in Anas boschas fera.	382
Nebennierenextrakt, Wirkung auf Tiere.		230	— voluta v. Linst. in Erinaceus albiventris.	381
Nervensubstanzextrakt, Wirkung auf Tiere.		225	Thymusextrakt, Wirkung auf Tiere.	228
Normalagglutinine, Versuche.		430	Tiere tuberkulöse, Verhalten bei subkutaner Injektion von Tuberkelbacillen.	12
Normalserum, Alexine und mikrobizide Substanzen.		723	Toxin aus gefrorenen Typhusbacillen.	332
Nosena caeculiae bei Caeculia.		646	Triplotaenia mirabilis.	60
— hydrae bei Hydria.		646	Tuberkelbacillen, Kultur nach Hesse und Spengler.	461
— junonis bei Dione junio.		645		
— micrattaci bei Micrattacus nana.		646		
Oochoristica bivittata.		60		
— didelphidis.		60		
Organextrakte, Literatur.		241		
—, toxische Wirkung.		33. 224		

Tuberkelbacillen, subkutane Injektion bei tuberkulösen Tieren.	12	Typhusbacillen gefrorene, Toxingewinnung.	332
Tuberkulin, spezifische Wirkungen.	287.	—, Giftigkeit der Bakterienleiber.	597
	406	—, Giftigkeit der filtrierten Kulturen.	594
Tuberkulinreaktion, Literatur.	282	—, Kritik der Einwände gegen ein lösliches Toxin.	600
Typhus, Dauer des Bestehens der Widalschen Reaktion.	121	—, Lebensdauer im Wasser.	209
Typhusagglutinine, Bildung bei Meer-schweinchen.	291. 441	—, Nachweis im Moldauwasser.	584
—, Uebergang von der Mutter auf die Kinder.	443	—, Nachweis nach Cambier.	300
Typhusbacillen, Agglutination durch andere Mikroorganismen.	742	—, Unterscheidung von Colibacillen nach Endo.	576
—, Agglutination und Begeißelung.	689	—, Verhalten gegen Koffein.	312
— agglutinierte, Färbung mit Silbernitrat.	457	—, Wachstum auf wasserarmen Nährböden.	116
—, diagnostischer Wert der Nährböden.	304	Typhusimmunsere, Beziehungen der Agglutinine zur agglutinogenen Typhusbacillenleibessubstanz.	694
—, Entstehung des Giftes.	598	Vaccine, Untersuchung des Iminserums.	272

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaeroben, Glaskammer zur Kultur.	748	Hydria spec. (Taf. Fig. 18.)	650
—, Kulturgefäße.	558	Hymenolepis spec. ohne Genitalporus.	223
Attacus aurota. (Taf. Fig. 13.)	650	Injektion intravenöse, Apparat zur Einspritzung größerer Mengen.	318
Bacillus mit abtrennbaren Geißeln. (Fig. 1.)	690	Kapselbacillus bei Rattenseuche.	608
— pestähnlicher bei Ratten. (Taf.)	457	Kulturschälchen.	28
— subtilis, agglutiniert. (Fig. 2.)	690	Lintowia Jheringi Zschokke. (Taf.)	62
Bacterium candidum Galli-Val. (Fig. 6.)	469	Lophocampa flavosticta. (Taf. Fig. 8.)	650
— coli commune, Kurve der Gasproduktion.	485	Methämoglobin, Spektrum.	331
— diphtheriae avium. (Fig. 3—5.)	469	Micrattacus nanus. (Taf. Fig. 19.)	650
— vulgare, Geißeln bei einer alten Kultur. (Taf.)	480	Micrococcus agilis, Geißeln bei einer alten Kultur. (Taf.)	480
Bakterienfilter nach Reichel, Verbesserung.	750	Moldau, Plan des Vorkommens von Typhusbacillen.	590
Bombyx mori. (Taf. Fig. 9.)	650	Nosema armigerac, Sporen. (Fig. 14.)	648
Brassolis astyra. (Taf. Fig. 3.)	650	— caeculiae, Sporen. (Fig. 16.)	648
Burette nach Görbing.	732	— helesidotidis, Sporen. (Fig. 15.)	648
Caeculia spec. (Taf. Fig. 16. 17.)	650	— hydriae, Sporen. (Fig. 26.)	648
Catopsilia eubule. (Taf. Fig. 7.)	650	— junonis, Sporen. (Fig. 13.)	648
Corynebacterium vaccinae Galli-Val. (Fig. 1, 2.)	469	— micrattaci, Sporen. (Fig. 27. 28.)	648
Danais erippus. (Taf. Fig. 4.)	650	Oktosporen aus Raupen und Puppen. (Fig. 20. 21.)	648
— gilippus. (Taf. Fig. 5.)	650	Oktosporencysten aus Simuliumlarven. (Fig. 24.)	648
Darmbakterien.	17	Organe, verändert durch toxische Organextrakte. (Taf.)	242
Desinfektionsapparat für Saprol.	738	Oxyhämoglobin, Spektrum.	331
Dione junno. (Taf. Fig. 2.)	650	Papilio pompejus. (Taf. Fig. 21.)	650
— vanillae. (Taf. Fig. 1.)	650	Parasiten von Simuliumlarven. (Fig. 17—19.)	648
Echinorhynchus cestodiformis v. Linst. (Taf. Fig. 3—4.)	383	Periplaneta americana. (Taf. Fig. 10.)	650
Eneis isabella. (Taf. Fig. 6.)	650	Pestbacillen bei Ratten. (Taf. I. II.)	130
Girardinus caudimaculatus. (Taf. Fig. 11.)	650	Physaloptera dispar v. Linst. (Taf. Fig. 1—2.)	383
Halesidota spec. (Taf. Fig. 15.)	650	Pieris monuste. (Taf. Fig. 12.)	650
Hefen pathogene. (Taf. I. II.)	522	Piroplasma bigeminum bei Mensch und Tieren. (Taf.)	216
Heliotis armigera. (Taf. Fig. 14.)	650	Pleistophoracysten aus Simuliumlarven. (Fig. 22. 23.)	648
Hundswut, Parasiten in Gehirnteilen. (Taf.)	545		

Pleistophorasporie aus Simuliumlarven. (Fig. 25.)	648	<i>Tacnia abortiva</i> v. Linst. (Taf. Fig. 7—10).	383
Pyämie mit Soorinfektion. (Taf.)	519	— <i>voluta</i> v. Linst. (Taf. Fig. 5—6.)	383
Rattenseuche, Veränderung der inneren Organe der Ratten.	609	Typhusbacillen, Agglutinationskurven. 293.	295—298. 441
Serum, Kurven der Veränderung durch Ricin.	243. 247. 248. 252	— agglutinierte. (Taf.)	461
<i>Simulium spec.</i> , Larve. (Taf. Fig. 20.)	650	— in der Moldau, Plan der Stadt Prag.	590

Taf. Fig. 1.

Fig. 5-6.

ation-kuren.

20-28.

der Stadt H.

st.



